

La réaction de fixation du complément dans l'infection poliomyélitique naturelle et expérimentale

Travail du laboratoire d'Hygiène

de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de LYON (Professeur R. SOHIER)

T H E S E

pour le Doctorat de l'Université de Lyon

Section de Pharmacie

présentée et soutenue publiquement

devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

le 23 juin 1964

PAR

Jean TERRAILLON

PHARMACIEN, diplômé de BACTÉRIOLOGIE, HÉMATOLOGIE, PARASITOLOGIE, SÉROLOGIE

Né le 3 Août 1929 à LYON (Rhône)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553420_0009

La réaction de fixation du complément dans l'infection poliomyélitique naturelle et expérimentale

Travail du laboratoire d'Hygiène

de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de LYON (Professeur R. SOHIER)

T H E S E

pour le Doctorat de l'Université de Lyon

Section de Pharmacie

présentée et soutenue publiquement

devant la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

le 23 juin 1964

PAR

Jean TERRAILLON

PHARMACIEN, diplômé de BACTÉRIOLOGIE, HÉMATOLOGIE, PARASITOLOGIE, SÉROLOGIE

Né le 3 Août 1929 à LYON (Rhône)

- P E R S O N N E L D E L A F A C U L T E -

DOYENS HONORAIRES :

M. LEPINE J. : Membre de l'Institut.
M. HERMANN H. : Correspond de l'Institut.

DOYEN: M. J.F. CIER

ASSESSEURS : MM. M. LEVRAT
L. REVOL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, NOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET.

P R O F E S S E U R S

MM. CIBERT	Clinique Urologique
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique Biologique
DECHAUME	Clinique Neuro-psychiatrique et d'Hygiène Mentale
CHAMBON	Chimie Organique et Toxicologie
WERTHEIMER	Clinique Chirurgicale B
PAUPERT-RAVAULT	Clinique Médicale B
FROMENT	Clinique & Prophylaxie Cardio-vasculaires
CROIZAT	Clinique Médicale C
ENSELME	Chimie Biologique et Médicale
MALLET-GUY	Clinique Chirurgicale A
REVOL	Pharmacie Galénique
POLLOSSON	Clinique Gynécologique
PIGEAUD	Clinique Obstétricale
BOURRET	Médecine du Travail
LEVRAT	Clinique Médicale A
SOHIER	Hygiène et Action Sanitaire et Sociale
NETIEN	Botanique & Cryptogamie
BERTRAND	Clinique Chirurgicale C
BADINAND	Chimie Analytique Pharmaceutique
DREVON	Pharmacie Chimique & Pharmacologie
ROCHE	Médecine Légale et Déontologie
COUDERT	Parasitologie et Pathologie Exotique
MOUNIER-KUHN	Clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie et d'Audio-Phonologie
PAUFIQUE	Clinique Ophtalmologique
THIERS	Clinique de Dermatologie, syphiligraphie et Allergologie.
BRUN	Clinique de Pneumo-phtisiologie
CREYSSSEL	Chaire de Clinique Chirurgicale orthopédique et Traumatologie
DARGENT	Clinique Carcinologique
GUICHARD	Anatomie Pathologique
GIRARD Paul	Pathologie Générale et Expérimentale
LATARJET	Anatomie

MM. PEYCELON
GIRARD Marcel
VACHON
GALY
PAPILLON
JEUNE
GONIN

MONNET
BANSILLON
CHATONNET
GUINET
TRILLAT
FREIDEL
MARION Joseph
DORCHE
DUMONT Louis
PERROT
CIER J.F.
PERRIN Jean
MICHAUD Pierre
X.....

X.....

Pathologie Chirurgicale
Thérapeutique
Pathologie Médicale
Physio-pathologie des voies respiratoires
Radiologie
Clinique des Maladies Infectieuses
Hydrologie Thérapeutique, Climatologie et Ecologie
Sociale.

Bactériologie
Physiologie et Pathologie Obstétricales
Physiologie B
Clinique Endocrinologique
Clinique de Chirurgie Orthopédique
Clinique Stomatologique
Clinique de Chirurgie et d'Orthopédie Infantiles
Matière Médicale et Législation Pharmaceutique
Histologie et Embryologie
Chimie
Physiologie A
Thérapeutique Chirurgicale et Chirurgie Opératoire
Clinique de Chirurgie Cardiaque
Clinique Médicale Infantile et Hygiène du premier
âge
Biologie Médicale et Pharmacodynamie

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

MM. BERGER
BERTOYE
MANSUY
COLLET
SARROUY
LACROIX
LIARAS
LECUIRE
REVOL
GOINARD
CIER André

Physique nucléaire appliquée à la médecine
Bactériologie
Neuro-Chirurgie
Chimie Générale et Pharmaceutique
Clinique de Pédiatrie
Hygiène et Clinique des maladies des pays chauds
Clinique Chirurgicale Propédeutique
Neuro-Chirurgie
Médecine Générale
Thérapeutique Chirurgicale
Pharmacie Chimique et Pharmacologie

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. ROMAN
FEROLDI
MORET

Parasitologie
Anatomie Pathologique
Physique Biologique

MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES TITULAIRES

MM. CREYSSEL Roger
THIVOLET
GARIN
PINET
ODDOUX

Chimie Biologique
Hygiène
Parasitologie
Electro-radiologie
Botanique et Cryptogamie

MM. De SOLLIERS
 TOLOT
 DESPIERRES
 GUYOTAT
 DESCOTES
 JOUVET
 PEYRIN
 TOMMASI
 BUFFARD
 LEJEUNE
 De MOURGUES F.
 NAUSSAC
 REBOUILLAT
 ROMAGNY
 DELAHAYE J.P.
 DELEUZE
 GIRAUD
 MICHEL
 FRANCOIS
 MICHOUILLIER
 COLOMB
 LAMBERT
 FRIES
 GILLY

Chimie Analytique
 Médecine du Travail
 Médecine Générale
 Neuro-Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pathologie Expérimentale
 Physique Biologique
 Anatomie Pathologique
 Electro-Radiologie
 Médecine Générale et Thérapeutique
 Stomatologie
 Maladies infectieuses
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Médecine Générale
 Anesthésiologie
 Electro-radiologie diagnostic et thérapeutique
 Anesthésiologie
 Pédiatrie et Puériculture
 Chirurgie Générale
 Dermatologie
 Médecine Générale
 Médecine Générale
 Pédiatrie

MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES STAGIAIRES

MM. DUROUX
 BREITE
 BOUCHET
 FAVRE-GILLY
 GIROD
 GRAS
 HALLEIN
 REFFAT
 FAUCON
 FLANDROIS
 VIALIER-REYNARD

Anatomie
 Thérapeutique
 Anatomie
 Hématologie
 Histologie et Embryologie
 Chimie Biologique
 Chimie Analytique
 Hygiène
 Biologie Médicale et Pharmacodynamie
 Physiologie
 Bactériologie

AGREGES EN EXERCICE

MM. BURTHIAULT
 GIGNOUX
 GUILLEMIN
 JAUBERT de Beaujeu
 MARION Pierre
 PLAUCHU
 PONT
 SAUTOT
 TRAEGER
 VIGNON
 BONAMOUR
 COLIN

Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Médecine Générale
 Médecine Générale
 Chirurgie Générale
 Médecine Générale
 Médecine Générale
 Ophtalmologie
 Médecine Générale

MM. De MOURGUES Georges

DEVIC

DUMONT Martiel

DURAND

FRANCILLON

SAUBIER

SCHOTT

ALLEGRE

CHASSARD

FAYASSE

GAILLARD

GARDE

HUGONNIER

KALB

LARBRE

MARET

MORNEX

NORMAND

PERRIN André

BETHENOD

DUMAS

GARNIER

NOEL

ROBERT

SCHNEPP

Chirurgie Générale

Médecine Générale

Obstétrique

Urologie

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Neuro-Psychiatrie

Neuro-Psychiatrie

Electro-radiologie

Orthopédie

Oto-Rhino-Laryngologie

Médecine Générale

Ophthalmologie

Pneumo-phtisiologie

Médecine Générale

Chirurgie Générale

Médecine Générale

Médecine Générale

Médecine Générale

Pédiatrie et Puériculture

Stomatologie

Obstétrique

Médecine Générale

Médecine Générale

Orthopédie

EXAMINATEURS DE LA THESE :

MM. R. SOHIER

L. REVOL

B. DREVON

J. THIVOLET

A LA MEMOIRE DE MA MERE,

A MON PERE,

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur R. SOHIER,

qui a été et est, dans toute l'acception
du terme, notre MAITRE.

En faisant de nous son collaborateur il nous
a accordé un véritable titre dont nous apprécions
chaque jour la valeur.

Nous le prions de croire à notre admiration
et à notre respectueux attachement.

A N O S J U G E S :

Monsieur le Professeur L. REVOL,

qui fut notre maître et qui nous prodigue
encore les marques de sa bienveillance.

Nous lui sommes très reconnaissant de
l'honneur qu'il nous fait en acceptant d'être notre
juge.

Monsieur le Professeur B. DREVON,

qui, après nous avoir dispensé son enseignement,
veut bien s'intéresser encore une fois à notre travail.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde
gratitude.

Monsieur le Professeur-Agrégé THIVOLET,

Conseiller et ami de chaque jour, à qui
nous adressons nos respectueux remerciements.

AUX MEMBRES DU LABORATOIRE D'HYGIENE,

Cette thèse est la somme d'un travail d'équipe.
Elle se voudrait un hommage à tous ceux et celles qui,
depuis plusieurs années, ont assuré en spécialistes hautement
compétents, recherche et diagnostics virologiques.

Que soient infiniment remerciés tous nos amis
du Laboratoire qui nous permettent de présenter sous notre
nom, le bilan de ce que nos efforts communs nous ont permis
de connaître sur la poliomyélite.

- I N T R O D U C T I O N -

I - STRUCTURE ANTIGENIQUE DES POLIOVIRUS ET INCIDENCES DE CETTE STRUCTURE SUR LA VALEUR DU SERODIAGNOSTIC -

Les conditions théoriques qui rendraient idéal l'emploi du sérodiagnostic pour la détection des infections poliomyélitiques, devraient correspondre à deux exigences :

- d'une part la possibilité d'obtention d'antigènes de stricte spécificité, non seulement de GROUPE (poliovirus) mais encore de TYPE (1,2 ou 3).

- d'autre part - corollaire évident - parvenir à ne détecter dans l'organisme infecté que la réponse immunitaire spécifique à l'infection en cours, à l'exclusion de tout autre phénomène, tel que l'existence d'anticorps ne correspondant pas au virus responsable de la maladie actuelle, mais susceptibles de réagir avec les antigènes utilisés.

Or, non seulement un grand nombre de virus présente une structure antigénique qui nous apparaît aujourd'hui comme complexe, mais encore, certains groupes de virus, montrent des configurations antigéniques en rapport étroit les uns par rapport aux autres.

La première difficulté réside donc dans le fait que la mise en évidence d'un composant antigénique spécifique est parfois techniquement impossible, certains groupes de virus donnant des réactions croisées provoquées, non par les composants physiquement séparables mais par des structures antigéniquement très proches les unes des autres.

Nous rappellerons tout d'abord rapidement ce que l'étude du virus GRIPPAL a récemment permis de connaître à ce point de vue, les travaux ultérieurs sur la structure des poliovirus ayant utilisé les données obtenues par ces premiers chercheurs. Le virus grippal comporte deux antigènes susceptibles de mettre en évidence des anticorps fixant le complément. L'un est identique à la particule virale (AG V) * : il est spécifique de chaque TYPE de virus grippal (HENLE (W.) - HENLE (G.) - HUMMELER (K.) et LIEF (F.S.) 1961). L'autre,

* - Lire désormais AG pour antigène et Fix. C' pour fixation du complément.

plus petit, est séparable de la particule virale et constitue l'antigène SOLUBLE (AG S) qui fait dans ce cas précis, partie intégrante du virus (AG S INTERNE) puisque mis en évidence dans ses produits de dégradation, après action de l'éther (HOYLE (L.), 1952), et ne correspond pas ici à la résultante d'une interaction virus-cellule hôte (AG S EXTERNE) comme on peut le constater dans d'autres cas (FULTON (F.), 1949) et (KIRBER (H.W.) et HENLE (W.), 1950). Ces AG S se montrent spécifiques de chaque groupe A ou B) du virus grippal. Chacun de ces deux AG trouve évidemment sa place dans le sérodiagnostic par Fix. du C', le premier permettant une identification précise (FABIYI (A.) - LIEF (F.S.) et HENLE (W.), 1958), indispensable à l'épidémiologiste, le second facilitant les modalités techniques du diagnostic biologique courant, l'AG soluble A par exemple pouvant détecter les anticorps correspondants à tous les types de ce groupe, dont on sait combien ils sont nombreux et évolutifs.

Mais si des études sérologiques faites en utilisant des AGV permettent d'obtenir des réponses spécifiques homotypiques de "PRIMOINFECTES", elles montrent des réactions beaucoup plus complexes chez des sujets ayant DÉJÀ RENCONTRÉ un type quelconque de virus grippal. L'on peut démontrer en effet, qu'en engageant en Fix. du C' un AGV apparemment spécifique de type, on détecte dans les sérums de ces individus non seulement les anticorps anti V produits par la souche infectante, mais également les anticorps anti V correspondant à des types différents, responsables des contacts antérieurs, ceux-ci pouvant apparaître plus précocément que ceux-là et souvent à des titres supérieurs, ce qui semble démontrer un véritable processus de RAPPEL. Si l'on ajoute que, dans de tels cas, l'apparition des anticorps anti V de l'infection actuelle peut être retardée de deux à trois semaines, on admettra que l'interprétation des résultats obtenus chez ces patients est parfois délicate (HENLE (W.) et LIEF (F.S.), 1960) et (LIEF (F.S.) et HENLE (W.), 1960).

Mais plus paradoxale encore semble la découverte de certains malades élaborant des anticorps anti V contre des types auxquels ils ne pouvaient avoir été exposés ! (par exemple de jeunes enfants firent, après une infection par un type A2 en 1958 des anticorps anti V contre un type A qui avait déclenché une

épidémie en 1930 ! (LIEF (F.S.) et HENLE (W.), 1960).

Il est donc possible de rencontrer, sauf chez les PRIMOINFECTES, des réponses HETEROTYPIQUES, soit par un phénomène de RAPPEL, soit par un "élargissement du spectre des anticorps", dont la spécificité, devenue moins étroite, leur permet de réagir avec un AG préparé avec un type différent de celui qui a déclenché leur apparition.

Une théorie peut être proposée : les virus grippaux possèderaient chacun des configurations antigéniques variées : une partie de celles-ci dominerait, une année donnée, et déterminerait la spécificité de TYPE; une seconde partie, moins importante, serait cependant suffisante pour être responsable des réactions croisées directement décelables in vitro; une troisième partie enfin - à l'état de TRACES - déclencherait le phénomène de RAPPEL, induisant la remontée du titre d'anticorps hétérotypiques, correspondant à l'AG cause d'une infection ancienne. Il est alors concevable de découvrir dans de nombreux sérums des anticorps ~~peu~~ spécifiques, réagissant au moins partiellement avec plusieurs types de virus grippaux.

Notons d'ailleurs que ces faits - d'un grand intérêt théorique - s'ils compliquent beaucoup la tâche de l'épidémiologiste et la préparation rapide de vaccins efficaces lors d'une épidémie, gênent assez peu le laboratoire de diagnostic, car il est bien connu que lors de l'apparition d'un type nouveau de virus grippal, celui-ci se trouve vite seul en circulation.

Dans le cas des POLIOVIRUS, furent récemment faites des constatations assez comparables, que nous rappellerons :

A partir de cultures cellulaires d'un TYPE de poliovirus, il a été possible d'isoler deux composants antigéniques, spécifiques de type, tous deux utilisables dans la réaction de Fix. du C' :

1°/- Par centrifugation (ROIZMAN (B.), HOPKIN (W.) et MAYER (M.), 1958), on a pu séparer deux fractions sérologiquement actives : l'une D, plus lourde, infectieuse, montrant une structure complète au microscope électronique; l'autre C peu infectieuse et contenant peu d'acide nucléique. Ces deux

fractions provoquent l'apparition de deux lignes distinctes de floculation, en milieu gélosé et en présence d'anticorps poliomyélitiques. (HUMMELER (K.), ANDERSON (T.F.), BROWN (R.A.), 1962) et (LE BOUVIER (G.L.), 1959). La concentration de chacune d'elles dans les cultures varie suivant les cellules choisies, le milieu utilisé pour la culture du virus, la durée d'incubation et le traitement des AG après la récolte.

2°/- Par traitement de cultures cellulaires infectées par le fluorocarbure qui débarrasse le milieu de substances anticomplémentaires, sans en diminuer notablement la valeur antigénique, et ce sans concentration ni purification, on a découvert (HUMMELER (K.), HAMPARIAN (V.V.), 1958), (HUMMELER (K.) et TUMILOWICZ (J.J.), 1960), (HUMMELER (K.), ANDERSON (T.F.), BROWN (R.A.), 1962) :

- lorsque la récolte est PRECOCE, un AG identique à D,
- si la récolte est TARDIVE ou si l'on CHAUFFE la FRACTION PRECEDENTE 30' à 56°C: un AG différent du précédent.

- l'AG de type "NATIF", précocement formé, est appelé N.

L'AG est obtenu plus tard ou par chauffage est appelé H (Heated) son identité avec C, malgré de nombreux caractères communs, ne semblant pas absolue, en particulier H ne peut être séparé de N par centrifugation.

- Ces deux AG N et H ont des spécificités sérologiques différentes: en effet, si l'on absorbe grâce à un AG H spécifique du type 1 par exemple, les anticorps anti H homotypiques contenus dans un sérum humain, on peut ultérieurement mettre en évidence dans ce sérum les anticorps anti N type 1 - L'inverse est réalisable après absorption avec un AG N -

Mais rares sont les sérums humains réagissant seulement avec l'un ou l'autre de ces deux AG, pour un type donné (HUMMELER (K.) et HAMPARIAN (V.V.), 1958). Il est bien plus facile d'obtenir chez le cobaye (HUMMELER (K.) et TUMILOWICZ (J.J.), 1960) par des injections intrapéritonéales nombreuses, des sérums spécifiques : soit anti H en injectant du type 1 chauffé, soit un mélange anti H - anti N en inoculant du virus vivant, ce mélange pouvant, après

absorption des anti H, fournir un immunsérum spécifique anti N type 1. On possède ainsi un moyen de contrôle de spécificité des AG H et N.

Le chauffage à 56°C ne semblant pas constituer un moyen assez violent pour que la modification qualitative du caractère antigénique, résultant de la transformation de l'AG N en AG H puisse être imputée à une dénaturation protéique, il semble plus vraisemblable, plutôt que d'émettre l'hypothèse d'une dénaturation de l'AG N thermolabile démasquant l'AG H, de penser que (l'AG H semblant être normalement le précurseur de N) la chaleur interviendrait en INTERVERTISSANT le PRODUIT FINAL, N redonnant H, peut être par la rupture de certaines liaisons chimiques.

Mais le problème est encore compliqué par des faits d'expérience, prouvant que les réactions obtenues sont loin d'être régulièrement seulement homotypiques :

- Les sérums de cobayes inoculés soit avec un AG N, soit surtout avec un AG H d'un type de poliovirus, présentent parfois des réactions croisées avec les AG H et N des autres types.

- Les sérums de cobayes, auxquels furent inoculés simultanément les types 1 et 2 révèlent fréquemment, après un laps de temps convenable, non seulement des anticorps anti N et anti H des types 1 et 2 mais également anti H en type 3 (détectés après traitement du sérum par des AG H des types 1 et 2) (HENLE (W.), HENLE (G.), HUMMELER (K.) et LIEF (F.S.), 1961).

- Mis à part le cas du très jeune enfant, la proportion des réponses hétérotypiques chez l'homme est très importante.

Comme dans la GRIPPE, il apparaît donc que, d'une façon générale, seule la PREMIERE infection par un membre du groupe des POLIOVIRUS peut induire la formation d'anticorps strictement spécifiques de type.

- La réaction de Fix. du C' a permis d'autre part de constater que la montée des anticorps anti H précède celle des anti N, parfois de plusieurs semaines. Il semble en effet que la fraction N, si elle intervient rapidement dans l'élaboration des anticorps NEUTRALISANTS, ne détermine pas l'apparition

d'anticorps Fix. le C' dans les sérums PRECOCES, mais seulement dans les sérums dits TARDIFS, prélevés plusieurs jours après le début de la maladie. A l'opposé, la fraction H met en évidence les anticorps correspondants anti H et souvent à des titres élevés, dans les sérums prélevés très précocement (faits qui corroborent la théorie d'un AG H précurseur, donc présent TOT, et d'un AG N secondairement induit). Ces observations présentent une grande importance: il est en effet remarquable que, très peu de temps après le début de l'infection, le sérum du malade démontrera un titre d'anticorps anti H déjà important, qui pourra ne pas augmenter ou même décroître rapidement (anticorps NEUTRALISANTS ou Fix. le C' si on utilise des AG inactivés par la CHALEUR). Seul dans ces conditions, l'AG N, détectant des anticorps d'apparition plus tardive, pourra mettre en évidence une AUGMENTATION SIGNIFICATIVE du titre d'anticorps anti N (HENLE (W.), HENLE (G.), HUMMELER (K.) et LIEF (F.S.), 1961).

- Lorsque l'AGE AUGMENTE, se multiplient les possibilités d'expositions antérieures aux autres types de poliovirus et s'accroît de même la complexité des réponses immunitaires aux nouvelles infections. On peut noter en effet des montées d'anticorps, non seulement avec les AG N ou H du virus responsable (type 1 par exemple) mais aussi parfois avec les AG N et surtout H des deux agents hétérotypiques (2 et 3); réponses qui peuvent s'expliquer par le phénomène de RAPPEL signalé plus haut, ou par un "élargissement d'efficacité" donc un affaiblissement de spécificité, du spectre des anticorps, par des agressions anciennes et répétées par d'autres poliovirus. On peut effectivement constater que l'absorption de la plupart des sérums de convalescents infectés par le type 1, par l'AG H ou N d'un AUTRE TYPE, détermine une DIMINUTION du titre d'anticorps de ces sérums.

- Ce phénomène de rappel ou la présence d'anticorps de "large activité" semblent pouvoir être dûs à des infections antérieures non seulement à poliovirus mais également à d'AUTRES ENTEROVIRUS.

Nous rapporterons par exemple le cas de patients présentant une maladie fébrile avec douleurs musculaires et dans les selles desquels furent isolés des virus COXSACKIE B, et qui montrèrent une nette augmentation de leur titre d'anticorps vis-à-vis des AG N et H des trois types de poliovirus. De plus, des essais

systematiques d'absorption des sérums de ces sujets par divers AG N et H prouvèrent l'hétérospécificité de leurs anticorps, soulignant le déclenchement par un virus coxsackie d'une réponse immunologique HETEROGROUPE et HETEROTYPIQUE (HUMMELER (K.) et HAMPARIAN (V.V.), 1958).

En résumé, au cours de l'infection poliomyélitique humaine, apparaissent en règle générale, des anticorps homotypiques et hétérotypiques, ces derniers étant le reflet d'infections passées, ceux-là n'étant seuls décelés qu'après la première infection. L'hétérotypie anti N étant moins fréquente et toujours plus tardivement déclenchée, il est incontestable que les AG utilisés pour le diagnostic devront comporter cet AG N de préférence à l'AG H. Les difficultés de l'interprétation peuvent être de surcroît compliquées par l'existence possible d'anticorps dont l'apparition est provoquée par une infection à virus coxsackie mais pouvant néanmoins réagir avec des AG de virus poliomyélitiques.

Il importe de noter d'ailleurs que ces données ont de très larges retentissements : leurs incidences sont connues non seulement sur la réaction de Fix. de C' mais encore sur la NEUTRALISATION et l'INHIBITION de l'HEMAGGLUTINATION dont les applications au sérodiagnostic de nombreuses affections virales demandent de ce fait une certaine prudence.

En conséquence, que penser - à priori - de la valeur de la Fix. du C' dans le but d'identification de l'agent causal d'une infection virale ? Il ne faut pas perdre de vue que le seul isolement du virus qui ne peut être obtenu dans la majeure partie des cas qu'à partir de prélèvements provenant de cavités naturelles, (selles et lavage de gorge notamment) demeure la plupart du temps d'interprétation difficile : on sait aujourd'hui la fréquence des "PORTAGES", le virus n'étant alors qu'un hôte temporaire et sans rôle pathogène. On n'ignore pas le nombre élevé d'INFECTIONS INAPPARENTES provoquées par des virus du groupe ECHO ou COXSACKIE. On connaît le phénomène d'INTERFERENCE qui, lorsque plusieurs virus sont présents - par exemple dans l'intestin - explique que celui qui s'y trouve en excès ou qui se multiplie le mieux domine les autres, parfois jusqu'à les exclure, parfois jusqu'à gêner ou empêcher leur détection par les techniques d'isolement classiques, masquant ainsi peut-être l'un des agents d'une double infection, peut-être même le seul virus pathogène. A l'opposé il

arrive que plusieurs VIRUS soient isolés chez un même malade sans qu'il soit toujours facile de juger du rôle de chacun d'eux dans le déterminisme de la maladie actuelle; il est de plus critiquable d'exclure la possibilité de l'action simultanée de deux virus pouvant donner dans certains cas une maladie plus sévère qu'elle ne le serait normalement si un seul de ces agents était présent.

Enfin, connaissant le nombre de souches virales circulant couramment dans les hôpitaux et surtout dans les crèches et collectivités d'enfants, avec quelle circonspection ne doit-on pas considérer les isollements obtenus chez des malades ayant fait un séjour plus ou moins long, avant le prélèvement, dans les services hospitaliers ?

L'isolement du virus ne pouvant donc la plupart du temps être considéré comme suffisant, les techniques de SERODIAGNOSTIC représenteront, non pas une panacée, mais un complément indispensable, voire même la seule méthode de valeur, en l'absence d'un isolement.

En effet, si ces investigations sérologiques sont parfois compliquées chez certains sujets ayant déjà subi plusieurs infections par des agents du groupe viral en cause, elles n'en sont pas moins d'interprétation possible et d'un apport appréciable dans nombre de cas, surtout - comme nous essaierons de le démontrer - si l'on utilise la réaction de FIXATION du C' avec des ANTIGENES CONVENABLES.

Il n'en demeure pas moins vrai que la règle d'or de la biologie médicale garde ici toute sa valeur. En l'absence de signes cliniques spécifiques et d'une réaction princeps de valeur certaine, la "quasi certitude" de l'étiologie d'une affection virale ne sera obtenue que par la construction ordonnée et patiente d'un faisceau de présomptions cliniques, épidémiologiques et biologiques. C'est en la remplaçant dans ce cadre dont elle n'est qu'une pièce - mais importante, nous tenterons de le prouver - que nous aborderons l'étude de la réaction de FIXATION du C' dans le DIAGNOSTIC de la POLIOMYELITIS.

II - VALEUR GÉNÉRALEMENT ACCORDÉE À LA RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT, DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC DE L'INFECTION POLIOMYELITIQUE -

Si la réaction de fixation du complément relativement peu employée pour le diagnostic des affections bactériennes, on connaît la place privilégiée qu'elle occupe parmi les méthodes sérologiques de diagnostic d'un grand nombre d'infections virales, situation de choix tenant essentiellement à la simplicité et à la rapidité de sa mise en oeuvre et à une spécificité et à une sensibilité permettant l'identification de nombreuses infections à virus et apportant également d'utiles informations sur leur épidémiologie, étant bien entendu postulé l'emploi de bons antigènes dûment titrés et d'une technique rigoureusement mise au point.

DANS LE CAS PARTICULIER DE L'INFECTION POLIOMYELITIQUE nous allons tenter de résumer ce qui est généralement admis actuellement comme devant être mis soit à l'actif, soit au passif de la réaction de Fix. C' .

1°/- Ses avantages :

a)- Rappelons que l'isolement d'un virus poliomyélitique est le plus souvent obtenu à partir des selles du malade; or, la présence de cet agent dans l'intestin peut être transitoire, sans qu'un rôle pathogène puisse lui être imputé avec certitude. La réaction de Fix. C' peut mettre en évidence dans le sérum du malade, des anticorps spécifiques vis-à-vis du poliovirus découvert, et préciser ainsi le rôle joué par celui-ci.

b)- On sait que la poliomyélite antérieure aigue présente cette particularité que les premiers symptômes de la maladie - généralement sans valeur d'orientation pour le clinicien - apparaissent en moyenne une semaine à dix jours avant les paralysies - Or ce DEBUT VRAI de la maladie signe le moment de l'apparition et de la croissance - celle-ci étant généralement rapide - des anticorps NEUTRALISANTS; les signes d'alarme typiques n'apparaîtront qu'une semaine plus tard et avec eux coïncidera - dans la meilleure conjoncture - l'envoi au laboratoire d'un prélèvement de sérum, dans lequel le taux de ces AC NEUT. (1) sera souvent déjà très élevé et dont le taux maximum sera atteint.

(1)- Lire désormais pour AC NEUT. : anticorps neutralisants.

Il sera alors impossible de saisir une augmentation de ce taux sur un second sérum et la persistance parfois très longue même sans réinfection d'AC NEUT. provoqués par une infection ancienne étant toujours possible, interdira souvent de rapporter - dans des limites de probabilité convenables - l'infection actuelle à un agent poliomyélitique.

- Par contre, les AC Fix. C' (1) n'apparaissent et n'augmentent tout au moins dans la majorité des cas, que très peu de temps avant la paralysie et lentement. Le plus souvent leur décroissance est rapide, et leur disparition est en général acquise en moins d'un an. Nous savons que cette caractéristique d'un grand intérêt, n'est valable que pour les AC décelables par les AG n'ayant pas subi un traitement (chaleur, ultra-violets) susceptibles de transformer l'AG N en AG H (voir plus haut). Nous emploierons donc des AG non MODIFIES par des agents physiques.

- Ces modalités dynamiques sont valables également pour les formes cliniques de poliomyélite, atypiques (paralysies faciales, encéphalites) et abortives (méningites), les AC Fix. C' n'apparaissant que peu de temps avant le signe majeur.

- On comprendra qu'un diagnostic de présomption sera possible, dans ces conditions :

. non seulement par la constatation de ce qu'il est convenu d'appeler une "montée significative" des anticorps, c'est-à-dire par la mise en évidence dans un sérum dit "tardif", d'un taux d'anticorps au moins quatre fois plus élevé que celui d'un sérum, dit "précoce" - (cette méthode de diagnostic étant valable pour les AC Fix. le C' comme pour les AC NEUT.)

. mais encore par la mise en évidence de ce que l'on nomme un "taux significatif" d'anticorps Fix. C', déterminé d'après une moyenne obtenue sur de nombreux sérums provenant de malades atteints d'affections d'étiologie poliomyélitique certaine, taux que l'on peut obtenir avec UN SEUL SERUM plus ou moins tardif. Quand on connaît le nombre de cas où il est impossible d'obtenir deux sérums prélevés à des moments convenables, on admettra l'intérêt capital de cette possibilité offerte par les AC Fix. C'.

(1) - Lire désormais pour AC Fix. C' : anticorps fixant le complément.

2°/- Ses insuffisances :

a)- Elles tiennent d'abord au fait que, dans un certain nombre de cas, l'évolution des AC Fix. C' est capricieuse : comme nous le verrons, la plupart des auteurs sont d'accord pour admettre que - dans une minorité de cas il est vrai - leur apparition, leur croissance, l'atteinte de leur concentration maximum, leur décroissance, peuvent être notablement variables dans leur moment de survenue (par rapport au début de l'infection), leur intensité et leur durée -

b)- Lorsqu'il s'agit d'une première infection, les AC Fix. C' sont en règle, spécifiques du type du poliovirus en cause : 1, 2 ou 3 (AC homotypiques). Mais lors de réinfections, peuvent apparaître, à côté de l'AC homologue, des AC réagissant avec les antigènes des deux autres types même lorsque ceux-ci semblent n'avoir jamais infecté le sujet. (AC hétérotypiques). Notons que cette réponse immunologique "hétérotypique", si elle rend parfois difficile le typage du poliovirus responsable, n'est nullement l'apanage des AC Fix. C' (voir plus haut).

De plus, à côté de ces réponses hétérotypiques, on peut en rencontrer provoquées par des entérovirus non poliomyélitiques, coxsackies et ECHO; ces derniers surtout étant assez fréquemment rencontrés dans l'intestin, on imagine aisément les causes d'erreurs qui peuvent en découler (AC hétérogroupes).

c)- Rappelons enfin que certains sérums peuvent développer un pouvoir anticomplémentaire. Mais celui-ci est presque toujours secondaire et peut être évité, dans la grande majorité des cas, par une expédition et un stockage effectués dans les conditions convenables.

III - EVOLUTION DE LA REACTION DE FIX. DU C' ET DE SES ELEMENTS, DANS LA POLIOMYELITE -

1°/- Antigènes :

Il est désormais acquis que devront être seuls employés des AG vivants qui d'une part mettront en évidence des MONTEES SIGNIFICATIVES d'anti-

corps bien plus fréquemment que les AG chauffés, d'autre part détecteront moins de réactions hétérotypiques parasites que ces derniers. Notons qu'est actuellement tombé l'argument majeur contre l'utilisation de ces AG vivants, depuis que la préparation d'AG à partir des souches ATTENUÉES de SABIN (SOHIER (R.) et Coll., 1964) est devenue possible, supprimant ainsi tout danger de manipulation.

Afin d'obtenir des préparations aussi SENSIBLES et SPECIFIQUES que possible, et de diminuer au maximum leur pouvoir anticomplémentaire, de nombreux travaux se sont donnés pour but de PURIFIER et de CONCENTER la partie antigénique utilisable dans la réaction.

Nous n'avons pas l'intention d'étudier la totalité des techniques permettant l'obtention d'AG fixant le C' en présence de sérums de poliomyélitiques. Nous ne décrirons en détail que celles qui ont été adoptées ou adaptées dans notre laboratoire. Pour les autres, on pourra se reporter à la thèse de AMIEL (C.), 1964.

a)- Préparation :

- Antigènes bruts : nous ne rappellerons que pour mémoire ceux qui étaient obtenus à partir de TISSUS d'ANIMAUX INFECTÉS (SELZER (G.), 1960) qui présentaient, à côté d'une valeur antigénique médiocre, un pouvoir anticomplémentaire élevé. Actuellement, mis à part des essais récents à partir de cerveaux de souris infectés avec des souches adaptées de type 1 et 2, on utilise bien plus volontiers comme produit de départ des CULTURES CELLULAIRES INFECTÉES (AMIEL (C.), 1964), beaucoup plus pratiques car libérant de la sujétion d'élevages et de manipulations coûteux et difficiles, et fournissant plus facilement et plus régulièrement des préparations de bonne valeur antigénique.

Un grand nombre de LIGNÉES CELLULAIRES a été utilisé avec succès ce qui semble prouver qu'un grand choix reste possible et que ce facteur reste une variable assez souple, à l'opposé de ceux - nombreux - qui doivent être standardisés ou dont on devra régler minutieusement qualité et quantité. Suivant les techniques, des cultures PRIMAIRES (reins de singe,

embryon humain) ou CONTINUES (Hela - KB - Hep 2) sont employées.

L'AG brut est constitué soit par le liquide de SURVIE prélevé après que les cellules aient présenté les lésions nécessaires à sa production, soit par l'ensemble LIQUIDE de SURVIE - CELLULES, ce mélange étant soumis au préalable à divers traitements (centrifugation; broyage; congélation; décongélation etc....). Nous citerons dans ce groupe :

. (SVEDMYR et Coll., 1952) qui inaugura en Suède l'utilisation des cultures cellulaires. Les cellules Hela après 4 jours de croissance dans un milieu contenant du SERUM HUMAIN en grande quantité (40 %) sont placées, après inoculation de chaque type de virus en milieu de survie; l'ensemble de ces derniers liquides est recueilli après 4 jours, congelé puis INACTIVÉ une heure à 56° C.

Nous avons essayé d'utiliser cette technique que nous avons rapidement abandonnée : d'une par le pouvoir anticomplémentaire de la préparation était élevé, d'autre part l'emploi massif de sérum humain, rendit cette préparation coûteuse et les quantités notables d'anticorps présents dans les pools rendaient certains de ceux-ci inutilisables et obligeaient dans les meilleures circonstances à des "lavages" des cellules avant l'inoculation des virus qui multipliaient les risques de contamination.

. (GODTFRESSEN (A.), 1959) au Danemark fabrique des AG sur cellules de reins de singe suivant des modalités que nous avons tenté de reproduire, mais qui ne nous permirent pas d'obtenir de résultats convenables.

. (SCHMIDT (N.J.) et LENNETTE (E.H.), 1956) ensemencent sur Hela respectivement les souches MANONEY (type 1), MEF (type 2), SAUKETT (type 3). La culture se fait en flacon type MILK à partir d'une inoculation de un million de cellules et placés en incubation à 36° C dans 10 ml d'un milieu de croissance composé de :

Hydrolysate de lactalbumine	0, 5 %
Glucose	0, 4 %
Yeast extract.....	0, 1 %
CO ₃ H Na	0, 11 %

Rouge de phénol à 1 %..... 1,6 ml/litre
Sérum inactivé d'homme ou d'agneau 10 %
Milieu de EARLE : Q S P 1 litre

Le deuxième jour, on ajoute 5 ml de ce même milieu dans chaque flacon. Le cinquième jour on retire le milieu et on le remplace par 10 ml de milieu frais. Le septième jour, on ajoute 5 ml de milieu frais. Le huitième jour on remplace la totalité du milieu par 10 ml de milieu frais. Le neuvième jour on rejette le milieu et on lave deux fois les cellules avec 10 ml de solution de HANKS.

On inocule 0,5 ml de la suspension de virus à la dilution 10^{-1} . On ajoute dans chaque flacon 8 ml de milieu de survie avec

Tryptose phosphate BROTH.....	20 %
Sérum de singe inactivé.....	2,5 %
Glucose.....	0,4 %
Milieu de PARKER.....	77,5 %

solution dont on ajoute le pH à 7,6 avec une solution de $\text{CO}_3 \text{ H Na}$ à 8,8 %. On met en incubation à 36°C pendant 3 jours, délai après lequel la dégénérescence cellulaire doit être totale. On recueille alors les liquides dont on ajuste le pH à 7,2 - 7,4 avec une solution de $\text{CO}_3 \text{ H Na}$ à 8,8 %. On stocke à -20°C . Au moment de l'emploi, décongeler et centrifuger à 1 000 tours pendant 15 minutes. Le SURNAGEANT constitue l'AG.

Nous n'avons pu obtenir de bons AG en suivant rigoureusement cette technique : la croissance de nos cellules était trop rapide et donnait dans les temps prescrits, des nappes trop épaisses; le pouvoir anti-complémentaire était important. Nous avons donc apporté quelques modifications qui donnèrent satisfaction :

- Nous avons réduit à 3 ou 4 jours le temps de croissance des cellules.

- Nous employons le milieu de survie de la composition suivante :

Tryptose phosphate BROTH (Sol. à 3 %).....10 ml
Sérum de singe inactivé (56° C - 30 min.)... 2,5 ml
Glucose 0,4 g
Sol. de EARLE contenant : d'hydrolysate de)
0,5 g % lactalbumine { .. Q S P 100ml
}

. Pas de modifications des autres facteurs.

- Antigènes concentrés : il est en réalité difficile de séparer des méthodes qui CONCENTRENT les éléments intervenant dans la réaction de Fix. du C', d'autres qui ELIMINENT certains produits gênants ou inutiles, en particulier anticomplémentaires. En effet, ces deux facteurs sont imbriqués et bien que presque naturellement complémentaires. Nous citerons :

.Méthode CONCENTRANT surtout (ARTZET (F.), 1960):

L'AG est préparé sur cellules KB avec les souches MAHONEY, MEF 1 et SAUKETT mais peut être obtenu sur cellules Hep 2 et sur Hela. Le milieu de croissance est celui comportant de l'hydrolysate de caséine (LEPINE (P.) SLIZEWICK (P.), DANIEL (P.) et PACCAUD(M.), 1956), additionné de 15 % de sérum de veau.

On ensemence dans une boîte de ROUX d'un litre contenant 100 ml de milieu 10 millions de cellules de façon à obtenir au moment de l'inoculation, soit 4 à 5 jours après, 20 à 30 millions de cellules. On devra inoculer 4 à 5 particules infectieuses par cellule (par exemple 15 ml d'une dilution à 10^{-1} d'une suspension de virus titrant 10^8 particules infectieuses par ml, dans une boîte contenant 30 millions de cellules). On a remplacé au préalable le milieu de croissance par 100 ml de milieu de survie (même composition mais sans sérum). Après 24 heures, la dégénération cellulaire est notable et la majorité des cellules s'est détachée du verre. On remet le culot de cellules lésées en suspension et on centrifuge à 3 000 tours 10 minutes; on rejette le surnageant. Le culot est remis en suspension dans 5 ml de tampon véronal; il se trouve ainsi concentré 20 fois. On homogénéise et on congèle en couche mince à - 40° C dans un mélange neige carbonique.- alcool éthylique

puis on décongèle au bain-marie à 35° C. Cette opération est répétée 5 fois. On se débarrasse alors des débris cellulaires par une centrifugation de 10 minutes à 3 000 tours; le surnageant constituant l'AG sera conservé congelé à - 20° C.

Cette technique tient compte d'un certain nombre de facteurs importants : pour que la valeur antigénique du produit soit optimum, le virus doit être intracellulaire; la couche du substrat sensible doit être monocellulaire et le contact virus - cellule doit être maintenu le temps juste nécessaire pour que toutes les cellules soient infectées de façon uniforme, dans le même but le virus doit être suffisamment dispersé donc inoculé sous volume relativement important et à la dilution précise qui fournira le nombre idéal de particules infectieuses. Nous avons essayé au laboratoire de modifier, en l'améliorant encore, cette technique :

./Nous employons une quantité deux fois moindre de milieu de survie (50 ml au lieu de 100) afin de recouvrir les cellules d'un film liquide aussi mince que possible, ce qui paraît convenir aussi bien au métabolisme du substrat qu'au développement de l'AG.

./Les souches virales peuvent être soit SAUVAGES (comme celles utilisées par ARTZET) soit ATTENUÉES (souches SABIN).

./Les cellules que nous avons utilisées étaient soit des Hela (14 millions par boîte de ROUX), soit des Hep 2 (9 millions).

./Nous recueillons l'AG après 20 heures, l'inoculation étant faite sur des cellules développées pendant 3 jours seulement et qui doivent donner à ce moment des nappes monocellulaires continues. On n'utilise donc que 50 ml de milieu de survie et l'on inocule 15 ml d'une dilution de suspension virale, au 1/10e (types 1 et 2) ou au 1/5e (type 3).

• Méthode PURIFIANT surtout : procédés CHIMIQUES :

./Par les SOLVANTS des LIPIDES en particulier l'éther (BOURDILLON (J.) et Coll., 1942) utilisé dès le premier temps d'extraction à partir de cerveaux de souris infectées par les poliovirus types 1 et 2 adaptés

à cet animal. Puis une précipitation par un mélange acétate Na - acide acétique à pH 4,6 fournit un culot qui est remis en suspension dans un tampon; une seconde précipitation par $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$ est suivie d'une dialyse terminale.

./Par le PHOSPHATE d'ALUMINE (FANTES (K.), 1962) le virus, adsorbé sur ce produit est ensuite élué; ce procédé, s'il permet une concentration de 10 à 100 fois des fractions C et D, apporte surtout l'élimination d'une grande partie des protéines inactives.

./Par le CHLORURE DE COBALT (GROSSOWICZ (N.) et Coll., 1960) utilisable pour traiter les poliovirus vivants ou inactivés. Le liquide de culture sur cellules de reins de singe est filtré puis, après alcalinisation à pH 9, additionné de $\text{Cl}_2 \text{ Co}$ jusqu'à une concentration approximative de 1 mg de $\text{Cl}_2 \text{ Co}$ pour 1 ml de suspension virale. Le floculat est centrifugé et le culot bleuté repris par un petit volume de tampon à pH 3.

./Par le FLUOROCARBONE (HALONEN (P.) et Coll., 1958) et (HERTENSTEIN (C.), 1960) et (MULLER (P.) et Coll., 1960), méthode initialement utilisée pour libérer, par déprotéinisation, les virus des tissus dans lesquels ils s'étaient multipliés, les particules virales passant dans la phase aqueuse et étant donc obtenues, après centrifugation, dans le surnageant. Application en fut faite ultérieurement pour préparer des AG poliomyélitiques dans le but d'éliminer les facteurs anticomplémentaires et divers constituants provenant des cultures cellulaires, et susceptibles de réagir avec les sérums à expertiser et conduire de ce fait à des erreurs. Un mélange de produit infecté (antigène brut) et de fluorocarbone est broyé et homogénéisé aussi parfaitement que possible. Après un temps de contact suffisant, il suffit de centrifuger pour récupérer l'AG purifié dans le surnageant. L'opération peut éventuellement être répétée jusqu'à 5 fois.

• Méthode PURIFIANT et CONCENTRANT : procédés PHYSIQUES et PHYSICOCHIMIQUES:

./ Par ULTRACENTRIFUGATION (BARON (S.), 1957) a pu mettre au point des AG poliomyélitiques en favorisant la formation du culot contenant les particules virales par adjonction au produit infecté, soit de GELATINE

(0,06 % d'une solution à 6 % chauffée 20' à 80°C puis filtrée), soit de SERUM de VEAU inactivé, addition après laquelle on centrifuge 3 heures à 78 000 g.

./Par PERVAPORATION (POLSON (A.) et Coll., 1957), méthode simple et économique mais longue, qui permet, après plusieurs évaporations de durée notable (10 heures) à 23°C, séparés par des dialyses contre de l'eau distillée, d'obtenir des concentrations de 1 000 fois.

./L'ULTRAFILTRATION sur collodion (SVEDMYR (A.) et Coll., 1952) et (BAUMEISTER (J.) et Coll., 1956) fut utilisée à partir de bougies filtrantes imprégnées avec une solution de collodion à 7 % dans l'acide acétique glacial. Le filtrat est centrifugé 15' à 13 000 tours, toutes les manipulations étant faites à + 4°C. On peut concentrer ainsi 60 à 600 fois.

./La DIALYSE soit contre le polyvinylpyrrolidone (PLAN (R.) et Coll., 1961), soit contre le polyéthylèneglycol (BUCCA (M.A.) et Coll., 1960) et (ALBANO (A.), 1961) et (BEALE (A.J.) et Coll., 1962).

./La CHROMATOGRAPHIE (SUGGS (M.) et Coll., 1961) a permis, en utilisant des colonnes de diéthylaminoéthylcellulose d'obtenir une purification partielle et une certaine concentration des antigènes préparés sur cultures cellulaires.

. Procédés combinés PHYSIQUES - CHIMIQUES - BIOLOGIQUES (SCHWERTDT (C.E.) et Coll., 1956) et (ROIZMAN (B.) et Coll., 1959):

On a pu concentrer les particules virales et dénaturer les protéines non virales par emploi successif du méthanol puis du butanol. Après une ultracentrifugation, le culot est traité par des enzymes (Ribo et Désoxyribonucléases). Après une nouvelle centrifugation puis une séparation électrophorétique, suivie d'une séparation dans des solutions de saccharose de diverses concentrations, une dernière centrifugation fournit l'AG.

b)- Inactivation : mis à part l'emploi, soit d'antigènes bruts, soit d'AG purifiés, soit d'AG purifiés et concentrés, le facteur le plus variable suivant les auteurs réside dans le choix d'antigènes VIVANTS d'une part, INACTIVES d'autre part.

- Pour ceux qui préfèrent ces derniers , à côté de la chaleur, agent d'inactivation le plus couramment utilisé, on a aussi employé le FORMOL à 1 p. 1 000 (BLACK (F.L.) et Coll., 1955) et (FANTES (K.H.), 1962), la b β -propiolactone (LO MONACO (G.B.), 1958), les rayons ultra-violets (LE BOUVIER (G.L.), 1955) et (ROIZMAN (B.) et Coll., 1959) ont été et sont les agents inactivateurs les plus couramment utilisés.

- Il nous paraît utile de rappeler les raisons, déjà exposées plus haut, qui nous ont fait préférer définitivement l'emploi de SUSPENSIONS VIRALES NON MODIFIEES .

c)- Conservation : la LYOPHILISATION méthode reine de conservation moderne s'étant avérée inutilisable en ce qui concerne les AG poliomyélitiques, et le stockage en réfrigérateur à + 4° C étant insuffisant, les AG doivent toujours être placés à basse température, EGALE ou INFÉRIEURE à - 20°C. Nous signalerons que même dans ces conditions, nous avons constaté que de nombreux lots préparés par nous et ainsi conservés subirent une diminution d'activité avec le temps, devenant notable surtout après deux à trois mois. Ce fait s'avère très gênant car il rend inutile la préparation de lots importants d'antigènes.

Notons que nous avons remarqué à plusieurs reprises que ces préparations avaient pu subir une, voire deux décongélations - recongélations, sans que leur valeur antigénique s'en soit trouvée modifiée.

d)- Titrage : le titrage de ces préparations peut être effectué en les engageant dans une réaction de Fix. du C' vis-à-vis de sérums HUMAINS ou ANIMAUX (voir plus loin) dont le titre a été établi par le laboratoire vis-à-vis d'un antigène de référence ou, en l'absence de ce dernier, par rapport à un AG de bonne qualité.

Pour ce faire, aux méthodes à doses fixes de sérum, on préfère actuellement les techniques engageant des dilutions variables d'AG avec des dilutions variables d'anticorps (principe de BOERNER - LUCKENS, 1937), permettant de déterminer la plus grande dilution d'AG déterminant la fixation

complète du C' en présence de la plus faible quantité possible d'anticorps. Cette UNITE ANTIGENIQUE est classiquement doublée dans la plupart des réactions diagnostiques. Certains auteurs cependant emploient 4 - 6 et même 8 unités.

c)- Antigènes de contrôle préparés avec les mêmes tissus ou cultures cellulaires et dans les mêmes conditions que les antigènes poliomyélitiques, mais SANS INOCULATION de VIRUS, ils sont destinés à détecter dans les sérums à expertiser la présence éventuelle d'anticorps non spécifiques (dits "antitissulaires") réagissant avec un ou plusieurs constituants des substrats culturels, ces anticorps constituant bien évidemment une cause d'erreur indécélable par tout autre moyen.

2°/-Sérums de référence :

Seront utilisés comme contrôle de SENSIBILITE et de SPECIFICITE non seulement dans les titrages d'AG mais aussi dans chaque série de réactions diagnostiques afin de déceler une altération éventuelle des préparations antigéniques.

a)- Les sérums d'animaux HYPERIMUNISES parmi lesquels on trouve le plus fréquemment :

- Les SINGES (*Macacus rhésus* en particulier) (SCHMIDT (H.J.) et LENNETTE (E.H.), 1956). La mise en condition classique ~~consiste~~ à pratiquer des séries d'injections intramusculaires à des séries d'animaux, deux fois par semaine pendant deux semaines, de 2 ml d'un mélange composé à parties égales d'une suspension non inactivée de l'un des trois types de poliovirus d'une part, d'un adjuvant type FREUND d'autre part (FREUND (J.) et Coll., 1948). Certains auteurs ont pu obtenir ainsi des sérums riches en anticorps homotypiques qui, avec l'AG homotypique peuvent fixer le C' à un titre pouvant atteindre 1 024.

- Les COBAYES (HUMMELER (K.) et Coll., 1960) matériel pratique et économique ont fourni à certains auteurs de bons sérums homotypiques. On a employé les voies d'inoculation les plus diverses, le nombre et les intervalles de temps entre chacune des injections étant eux-mêmes très variables.

On aura bien entendu (voir plus haut) intérêt à préparer des sérums contre la seule fraction N.

- Les LAPINS sont peu utilisés en général, car ces animaux développent très fréquemment dans leur sérum un pouvoir anticomplémentaire difficilement réductible.

b)- Les sérums HUMAINS provenant de MALADES en période d'état ou convalescents de POLIOMYELITIS TYPIQUE que nous avons toujours préférés pour plusieurs raisons :

- Nous n'avons pas eu la possibilité technique de pratiquer des essais sur le singe.

- Les cobayes sur lesquels nous avons tenté de multiples essais ne nous ont pas fourni de bons résultats, soit que les titres obtenus étaient médiocres ou mauvais lorsque les inoculations étaient peu nombreuses, soit que ces titres étaient convenables mais très hétérotypiques si les injections étaient multiples.

Notons cependant que nous n'avons fait d'essais qu'avec des suspensions virales dans lesquelles les diverses portions antigéniques n'étaient pas séparées.

- Mais l'argument princeps nous semble constitué par l'observation répétée que nous avons pu faire, lors de nos titrages d'AG que certains de ceux-ci qui nous permettaient de retrouver, à dilutions élevées, les titres des sérums animaux de référence, donnaient des résultats beaucoup plus MEDIO-CRES vis-à-vis des sérums HUMAINS de référence. N'ayant pas retrouvé d'équivalent dans la littérature, nous nous bornerons à donner acte d'un fait d'expérience; il est de toute façon admis par tous qu'il est plus satisfaisant d'utiliser des sérums provenant de la même espèce pour les contrôles et pour les expertises.

Ces sérums humains de référence sont obtenus à partir de malades souffrant d'une affection dont l'étiologie poliomyélitique a été dûment établie par la clinique, l'isolement du virus et la constatation d'une montée significative du taux d'anticorps Fix. le C', réagissant de façon homotypique, c'est-à-dire

avec l'une OU l'autre des suspensions antigéniques des 3 types, non inactivées

- Il est indispensable de n'utiliser que des sérums possédant un taux élevé d'anticorps (titre ≥ 32 au moins), les échantillons ne contenant que des taux faibles donnant des résultats rapidement inconstants, fait peut-être explicable par une certaine labilité, une "qualité autre" des anticorps chez les individus s'étant mal immunisés ou ne possédant que des anticorps dits "résiduels".

- Comme garants de SPECIFICITE, nous devons engager également des SÉRUMS HUMAINS provenant de sujets exempts d'infection poliomyélitique et qui devront bien entendu fournir des résultats négatifs.

- Ces sérums de REFERENCE, humains ou animaux seront prélevés, répartis et stockés comme les sérums à EXPERTISER (voir plus loin).

3°/- Sérums à expertiser :

On devra obtenir si possible un sérum précoce ("acute serum" des anglo-saxons: 3 premiers jours après le début de la maladie) et un sérum tardif ("convalescent serum" des anglo-saxons) prélevé entre le 12e et le 20e jour.

Mais souvent on devra se contenter de sérum tardif, ce qui ne permettra pas de saisir une augmentation du taux d'anticorps. Nous verrons plus loin les nombreux facteurs qui rendent indispensable l'obtention par le biologiste d'échantillons suffisants et prélevés dans des intervalles de temps convenables que nous tenterons de préciser.

Après la prise de sang stérile, les sérums sont recueillis rapidement et répartis en tubes bien bouchés que l'on congèle à $- 20^{\circ} \text{C}$ si l'on ne pratique pas les réactions immédiatement. Il est possible de les lyophiliser et de conserver les ampoules à $+ 4^{\circ} \text{C}$.

Dans ces conditions il est très rare de voir se développer un pouvoir anti-complémentaire. Eventuellement ce dernier pourra être réduit par un certain nombre de méthodes parmi lesquelles nous citerons :

- celle de LENNETTE (LENNETTE (E.H.) et SCHMIDT (N.J.), 1957) on ajoute à 0,6 ml du sérum anti C', 0,15 ml de SÉRUM de COBAYE FRAIS. Le mélange est laissé une nuit à + 4° C., puis au bain-marie à 37° C pendant 30 minutes. On ajoute 1,65 ml de solution tampon de KOLMER ce qui donne une dilution au 1/4 et on inactive à 60° C pendant 30'.

- On pourra aussi essayer (DEKKING) de supprimer le pouvoir anticomplémentaire, en diluant le sérum à expertiser avec du sérum humain frais, dont on s'est assuré au préalable qu'il ne contient pas d'anticorps antipoliomyélitiques. Puis on inactive 30' à 56° C.

4°/- Techniques :

Il est possible d'employer (KARRER et Coll., 1950) la réaction indirecte (dite d'inhibition de la fixation du C') dans certains cas particuliers et cette modalité a pu apporter d'utiles renseignements à certains auteurs.

Dans le diagnostic courant, on utilisera la réaction directe de fixation du C', les techniques faisant intervenir des quantités importantes de réactifs (MAC RONETHODES) étant de plus en plus supplantées, pour des raisons d'économie et de commodité, par des MACROMETHODES.

- Les MAC RONETHODES se font toutes en toutes en tubes et sont pour la plupart inspirées de la réaction de KOLMER dont SCHILDT et LENNETTE mirent au point les premiers en 1955, une variante destinée à l'expertise des sérums poliomyélitiques.

- Les MICROMETHODES proposées sont nombreuses, car intéressantes par les petites quantités de sérum nécessaires, l'économie de réactifs et l'encombrement moindre. On distingue :

. Les techniques en TUBES parmi lesquelles se trouve celle qui a été proposée par R. SOHIER (SOHIER (R.) et Coll., 1956) et que nous avons utilisée pour nos réactions. Nous la décrivons en détail plus loin.

. Les techniques sur PLAQUES - Originellement proposée par

(FULTON et DUTBELL, 1949), cette méthode de grande précision fut initialement destinée aux titrages des antigènes. De nombreuses adaptations en furent proposées et sont actuellement très pratiquées surtout par les auteurs anglo-saxons.

Nombreuses donc furent les techniques choisies mais - mise à part celle de BLACK et MELNICK (1954) qui utilisent des doses variables de C' dans le but d'augmenter la sensibilité de la réaction -, la quasi totalité des méthodes résulte de modifications et d'adaptations plus ou moins importantes des trois citées ci-dessus.

Notons d'ailleurs que la multiplicité de ces techniques, parfois incomplètement décrites dans de nombreuses publications, et modifiant les rapports entre les éléments, les temps de fixation, le couple hémolytique en quantité et en qualité, le mode de lecture, rendent souvent très délicate la confrontation des résultats obtenus. Une standardisation serait souhaitable qui authentifierait certains travaux dont nous n'avons pas pu tenir ici le compte qu'ils méritaient sans doute.

*

*

*

- BUT DE CE TRAVAIL -

Nous souhaitons confronter les conclusions que nos études nous permettront de tirer, avec celle d'une partie des auteurs dont nous résumerons les résultats et les observations.

Nous nous sommes attachés à dégager, dans le cadre d'enquêtes relativement limitées, la valeur de la réaction de Fix. C' du point de vue :

1°/- de la SENSIBILITE, c'est-à-dire de la fréquence avec laquelle elle permet de détecter l'origine poliomyélitique d'une infection, et ceci en examinant :

a)- Un groupe de sujets atteints d'INFECTIONS NATURELLES dont l'étiologie était ou non, rapportée par la clinique aux poliovirus.

b)- Un groupe de sujets chez lesquels fut déclenchée une INFECTION EXPERIMENTALE prophylactique, par administration de virus vaccin VIVANT ATTENUÉ.

2°/- de la SPECIFICITE c'est-à-dire de la régularité avec laquelle la réaction de Fix. C' se montre négative, dans tous les cas où une infection poliomyélitique n'est pas en cause,

ceci en étudiant :

a)- Un groupe de sujets atteints d'infections NATURELLES parmi lesquels :

- certains souffraient d'affections neurologiques dont l'étiologie fut prouvée et n'était pas poliomyélitique,

- certains étaient atteints d'affections forts diverses (pneumopathies, laryngites, myocardites, crises convulsives etc...) sans aucun rapport avec les syndromes cliniques observés au cours des affections à poliovirus.

b)- Un groupe de sujets qui n'avaient JAMAIS RENCONTRE de POLIOVIRUS constitué par des enfants dont les sérums, prélevés AVANT une VACCINATION, ne possédaient pas d'AC NEUT détectables, contre aucun des 3 types de poliovirus.

*

*

*

- M A T E R I E L - M E T H O D E S -

I - ANTIGENES -

Nous avons successivement utilisé, à notre satisfaction, la préparation de SCHMIDT et LENNETTE puis celle proposée par ARTZET, après les avoir modifiées suivant les modalités décrites plus haut. (Voir chapitre précédent)

Ces suspensions ont été employée SANS INACTIVATION préalable.

Leur conservation est assurée au congélateur à - 20° C .

Leur pouvoir anticomplémentaire est recherché et ces antigènes ne sont déclarés utilisables que s'ils permettent l'utilisation dans la réaction du C' au moins dilué au 1/20e.

Leur titrage est effectué par la méthode de BOERNER - LUKENS adaptée à la microméthode en tubes de R. SOHLER : la suspension antigénique, une fois la dose optima déterminée, est engagée à la concentration convenable pour fournir DEUX UNITES ANTIGENIQUES, chaque fois que possible en concentrant dans un volume STANDARD (1/50e de ml), et lorsque l'AG est médiocre en doublant le volume d'AG utilisé (1/25e de ml).

3 suspensions correspondant à chacun des 3 types de poliovirus sont utilisées dans la même réaction, avec chaque sérum.

II - ANTIGENES DE CONTROLE -

La présence possible dans les sérums humains à expertiser d'anticorps dits "antitissulaires", c'est-à-dire pouvant réagir avec des constituants des suspensions antigéniques, sans rapport avec les poliovirus, nous obligent à pratiquer, en parallèle avec la réaction proprement dite, une réaction témoin en engageant les sérums à expertiser avec des antigènes de contrôle préparés avec les mêmes cultures tissulaires que celles qui nous fournissent les préparations antigéniques, mais non ensémençées par des poliovirus.

III- SÉRUMS DE REFERENCE -

Pour des raisons déjà exposées nous n'avons utilisé que des sérums HUMAINS provenant de malades atteints de formes TYPIQUES de poliomyélite, ou de convalescents, en exigeant :

- a)- qu'ils possèdent un titre élevé d'anticorps spécifiques (≥ 32)
- b)- qu'ils ne contiennent que l'anticorps correspondant au type de poliovirus isolé dans les selles et responsable de l'affection (sérum HOMOTYPIQUES)
- c)- qu'ils soient dépourvus d'anticorps "antitissulaires" et de pouvoir anticomplémentaire .

IV - SÉRUMS A EXPERTISER -

629 sérums ont été étudiés dans un double but :

1°/- Etude de la SENSIBILITE de la réaction de Fix. du C' :

Sont expertisés dans un lot :

a)- des sérums de sujets atteints d'affections NATURELLES d'origine POLIOMYELITIQUE certaine ou possible. 231 sérums provenant de 135 patients, parmi lesquels la clinique permet de classer une majorité d'infections apparentes : typiques (P.A.A.)

atypiques (encéphalites, paralysie isolée d'un nerf facial etc...)

abortives (méningites)

frustes (diarrhée, angine)

Quelques infections inapparentes : sujets "CONTACTS" de poliomyélitiques.

Dans la plupart des cas, il n'a malheureusement pas été possible d'obtenir des renseignements sur une vaccination antipoliomyélitique éventuelle de ces sujets.

b)- Les sérums de sujets soumis à une infection EXPERIMENTALE POLIOMYELITIQUE par ingestion d'un vaccin vivant trivalent.

282 prélèvements sont fournis par 141 enfants (dont la moi-

tié sont des sérums obtenus avant vaccination).

36 sérums prélevés chez 12 vieillards.

2°/- Etude de la SPECIFICITE de la réaction de Fix. du C' établie en confrontant les résultats obtenus avec les sérums des sujets précédents, avec ceux donnés par :

- 19 sérums de sujets atteints d'affections neurologiques, dont l'origine OURLIENNE ou HERPETIQUE est démontrée.

- 61 sérums de 34 sujets, infectés par des agents divers, non poliomyélitiques.

- 32 sérums fournis AVANT vaccination par des enfants ne possédant pas à ce moment dans leurs humeurs d'anticorps NEUTRALISANTS décelables.

Les sérums étudiés, de provenances très diverses et parfois lointaines, sont conservés à - 20° C pendant un temps variable.

Il ne nous a pas toujours été possible, vue la difficulté de production de lots importants d'antigènes convenables, d'engager chaque série de sérums le même jour avec les trois types antigéniques. Nous avons compensé ce fait par l'emploi régulier de nombreux sérums témoins de positivité variable, dont nous avons exigé de retrouver les titres pour valoriser la réaction. En raison de ces difficultés de préparation des suspensions antigéniques, certains sérums n'ont pu être testés que vis-à-vis du type 1. Cette restriction faite, n'intéressant qu'une minorité d'échantillons, tous les autres prélèvements ont été expertisés avec les AG correspondants aux 3 types de polio-virus ainsi qu'avec un AG dit "normal".

Tous les sérums sont engagés dans la réaction après dilution en tampon véronal et inactivation par la chaleur (30 minutes à 56° C). Six dilutions en progression géométrique croissante de raison 2 sont préparées, la première étant au 1/4 ou au 1/8e, la dernière au 1/128e ou au 1/256e.

. Les 6 dilutions sont expertisées vis-à-vis des trois antigènes poliomyélitiques.

. Les 2 premières seules, sont contrôlées avec l'AG normal, pour s'assurer de l'absence d'anticorps "antitissulaire".

. Le pouvoir anticomplémentaire est éventuellement détecté par un TEMOIN SERUM préparé avec la plus faible dilution. Chaque fois que cela est nécessaire, ce pouvoir anti C', lorsqu'il se manifeste est supprimé soit par dilution du sérum avant inactivation, dans un sérum humain frais (DEKKING), dont nous avons vérifié au préalable qu'il donne des résultats entièrement négatifs avec chacun des antigènes poliomyélitiques, soit par la méthode (LENNETTE (E.H.) et SCHMIDT (N.J.), 1957) en employant du sérum frais de cobaye.

Nous avons admis, que le TITRE de POSITIVITE du sérum, est donné par l'inverse de la dilution la plus forte, montrant après révélation, une hémolyse inférieure ou égale à 25 %, ce qui équivaut à 3 croix dans le mode de lecture classique que nous avons employé et qui vise - rappelons-le - à apprécier l'importance de l'opacité de la suspension d'hématies INTACTES, après sa remise en suspension, donc l'INVERSE DE L'HEMOLYSE (voir plus loin).

V - LES TECHNIQUES -

Chaque fois que possible, nous avons recoupé les résultats obtenus par la réaction de Fix. du C' avec ceux fournis d'une part par la réaction de neutralisation de l'effet cytopathogène des poliovirus 1,2 et 3; d'autre part en essayant d'obtenir l'isolement du ou des virus hébergés par le sujet, à partir de prélèvements divers constitués en grande majorité par les matières fécales. Nous décrirons donc :

- La technique d'isolement.
- La technique de neutralisation.
- La technique de Fix. du C'.

1°/- Recherche de virus dans les selles : On emploie des primocultures de rein de singe (Macacus cynomolgus ou Babouin Papio Papio) obtenues après dispersion des cellules par la trypsine et cultivées en solution de HANKS contenant 5 % d'hydrolysate de lactalbumine, additionnée de 10 % de sérum de veau, filtré et inactivé, et d'antibiotiques.

Ces cultures sont utilisées entre le huitième et le douzième jour après rejet du liquide de culture et remplacement par un milieu de survie (solution de PARKER modifiée par LEPINE).

Préparation des selles : dans des flacons spéciaux contenant des perles de verre sont introduits 7 volumes du milieu nutritif pour cellules, mais dépourvu de sérum, et un volume de selles soit fraîchement prélevé, soit prélevé aussitôt après décongélation à la température du laboratoire.

Après six minutes d'agitation mécanique, le flacon est placé au congélateur à $- 25^{\circ}$ et y demeure une nuit.

Après décongélation à la température du laboratoire, le flacon est centrifugé, dans une centrifugeuse horizontale type Jouan, à 4 500 tours pendant vingt minutes. Le liquide surnageant est prélevé et inoculé soit immédiatement, soit après un nouveau séjour au congélateur à $- 25^{\circ}$.

L'extrait de selles est inoculé dans trois tubes contenant chacun 1 ml de milieu : deux tubes avec trois gouttes, le troisième avec six gouttes de pipette PACTEUR. Après un séjour de trois heures, à l'étuve à 35° , le liquide est rejeté et remplacé par du milieu de PARKER.

Les tubes de cultures ensemencés sont examinés tous les 2 jours jusqu'au quatorzième jour et il est procédé à un deuxième passage systématique sur primo-cultures de rein de singe examinées dans les mêmes délais.

Lorsqu'un virus est isolé, on recherche d'abord s'il s'agit d'un virus poliomyélitique. L'identification est effectuée en introduisant dans 4 tubes 0,25 ml de suspension de virus diluée de façon à contenir entre 100 et 1 000 doses infectieuses et en ajoutant à chacun d'eux un volume égal d'un mélange de deux sérums neutralisants comportant respectivement les sérums anti 2 et 3, anti 1 et 3, anti 1 et 2 et un mélange des trois sérums précédents. Le contact sérum-virus est effectué pendant une heure à la température du laboratoire. On inocule deux tubes par mélange de sérum, à raison de 0,2 ml par tube du mélange virus-sérum. Les lectures sont effectuées à + 1 jour, + 4 jours et + 7 jours.

Les titres exprimés par l'inverse de la dilution des sérums, préparés sur cobaye dans le laboratoire, sont respectivement, pour le type 1 : 128, pour le type 2 : 8 192 et pour le type 3 : 724.

Chaque couple de sérum est constitué d'un mélange à parties égales de sérums dilués au 1/10 pour les types 1, 2 et 3, de telle sorte qu'ils sont à la dilution finale de 1/20 dans le mélange.

Il a été vérifié, au préalable, à partir de solutions virulentes, que les mélanges permettent bien l'isolement des virus 1, 2 et 3 et que les virus qui se développent en présence d'un mélange de deux sérums sont bien du type attendu .

2°/- Titration des anticorps sériques, neutralisant les poliovirus :

- Les sérums sont dilués de 1/2 en 1/2 à partir de la dilution initiale 1/4 :

soit 1/4 1/8 1/16 à 1/256.

- La suspension de virus est diluée de telle sorte qu'elle contienne environ 100 DICT₅₀, calculée selon la formule de REED et MUENCH (1938).

- La neutralisation consiste :

. à mélanger 0,25 ml de sérum à expertiser et 0,25 ml de la suspension de virus contenant ± 100 DICT₅₀ .

. à laisser en contact 3 heures à 37° C.

. à mettre 0,2 ml de mélange sérum-virus dans 2 tubes de cultures cellulaires contenant 1 ml de milieu de survie.

- Dans chaque série de neutralisation :

. le titre du virus est contrôlé par 2 méthodes :

* titre du virus avant utilisation pour la neutralisation

* contrôle de la dilution de neutralisation (100 DICT₅₀)
par titrage à 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ .

. des sérums de références pour les 3 types de titres

connus sont engagés (dilutions 1/2 en 1/2). Leur titre neutralisant doit être retrouvé à une dilution près.

- Le contrôle de tous les tubes est fait à 24 heures. Au 4ème jour l'effet cytopathogène est observé dans les tubes correspondant au titrage du virus et à la neutralisation des sérums de référence. La lecture finale de l'effet cytopathogène est faite à 7 jours.

3°/- Fixation du C' (microméthode en tubes de R. SOHIER) :

Cette adaptation de la méthode classique de KOLMER a été mise au point, dans l'esprit de son auteur, afin de disposer d'un instrument de travail économique et pratique, pour les diagnostics comme pour les enquêtes épidémiologiques. Mis à part le fait qu'elle demande le minimum de matériel spécial, elle permet la mise en oeuvre de l'ensemble des réactions nécessaires avec des quantités très réduites de sérum. A cet avantage très apprécié en particulier pour des études faites dans les collectivités d'enfants, voire de nourrissons, elle joint celui de limiter la consommation de stocks précieux d'antigènes.

TECHNIQUE DE LA REACTION

a)- Titrage du complément :

- Matériel :

Tubes dits à hémolyse 13 x 65 mm

Tubes spéciaux : 9 x 65 mm

Portoirs pour tubes à hémolyse : 3 à 12 trous

Portoirs pour tubes spéciaux : 1 à 24 trous.

Pipette de 2 ml graduée au 1/20 : une.

Compte-gouttes spéciaux (donnant 45 à 50 gouttes par ml)(*)

- Réactifs :

Complément : sérum de plusieurs cobayes mâles, conservé

(*) - On les fabrique en prenant des pipettes Pasteur finement effilées dont l'on engage l'effilure dans la fente d'une plaque de duralumin ayant 8/10 mm de large et l'on casse l'extrémité. Il faut ensuite les jauger et en préparer plusieurs donnant exactement le même nombre de gouttes au cas où celles utilisées au cours d'une épreuve seraient brisées.

à - 25 °.

Hématies : suspension d'hématies de mouton conservées en liquide d'Alsever (**) lavées et diluées (voir plus loin).

Solution tampon véronal type MAYER-KRAFT avec calcium et magnésium (***) (lire désormais pour T.V. : tampon véronal).

Sérum hémolytique concentré de l'Institut Pasteur de Paris.

Eau bi-distillée sur verre.

- Préparation des réactifs :

. Préparation des dilutions de complément :

Préparer trois portions de 12 trous (A, B, C) contenant chacun 5 tubes à hémolyse.

Répartir la solution T.V. de la façon suivante :

Galerie A : tube A¹ : 1 ml; A² : 1,25 ml; A³ : 1,50 ml;
A⁴ : 1,75 ml; A⁵ : 2 ml.

Galleries B et C : 0,50 ml dans tous les tubes.

Faire une dilution de complément au 1/5 (soit : complément : 0,35 ml + sol. T.V. : 1,4 ml). Ajouter à chacun des tubes de la galerie A 0,25 ml de complément dilué à 1/5.

Passer ensuite du dernier tube de la galerie A, 0,50 ml dans le dernier tube de la galerie B, puis après mélange, 0,50 ml de ce dernier tube de la galerie B dans le dernier tube de la galerie C. Refaire la même opération pour l'avant-dernier tube de la galerie A, dont on passe 0,50 ml dans l'avant-dernier tube de la galerie B, puis 0,50 ml de ce tube dans l'avant-dernier tube de la galerie C et ainsi de suite en remontant jusqu'au 1er tube de la galerie A.

(**) - Solution d'Alsever : Dextrose anhydre : 20,05 g. - ClNa : 8 g. - Citrate trisodique (5H₂O) : 4,2 g. - Eau distillée : 1 000 ml. Le pH doit être ajusté à 6,1, avec une solution d'acide citrique (5 %). Stérilisation à la chaleur trois jours de suite à 100° pendant 30 minutes. Le mélange se fait à volume égal de sang et de liquide conservateur.

(***) - Solution de tampon véronal : solution mère : ClNa : 85 g. - Véronal : 5,75 g. - Véronal sodique : 3,75 g. Dissoudre l'acide dans 500 ml d'eau bi-distillée. Compléter à 2 000 ml. Ajouter Cl₂Mg : 1,68 g. - Cl₂Ca : 0,28 g. Autoclaver 20 minutes à 105°. Conservation à 4° - pH : 7,2. Au moment de l'emploi diluer au 1/5 en eau bi-distillée.

On obtient alors le dispositif suivant :

A	C' dilué au 1/5	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
	Sol. T.V.	1	1,25	1,50	1,75	2
	Dilution obtenue	(1/25)	(1/30)	(1/35)	(1/40)	(1/45)
		↓	↓	↓	↓	↓
B	C' dilué (tube correspondant de A)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	Sol. T.V.	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	Dilution obtenue	(1/50)	(1/60)	(1/70)	(1/80)	(1,90)
		↓	↓	↓	↓	↓
C	C' dilué (tube correspondant de B)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	Sol. T.V.	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
	Dilution obtenue	(1/100)	(1/120)	(1/140)	(1/160)	(1/180)

On notera que ce dispositif permet de vérifier en fin d'opération que les répartitions ont été correctement effectuées. En effet, les 5 tubes de la galerie A devront avoir des niveaux régulièrement croissants (de 0,25 en 0,25 ml) soit respectivement un volume de 0,75, 1, 1,25, 1,50, 1,75.

Les 5 tubes de la galerie B devront avoir tous le même niveau correspondant à un volume de 0,5 ml et ceux de la galerie C un volume de 1 ml.

. Préparation de la suspension d'hématies :

Suspension de globules rouges de mouton à 2 % du culot, vérifiée à l'hématocrite.

- Titration de l'activité du complément en présence d'antigène

Le but de ce titrage est de déterminer la dose de complément qui permet l'hémolyse totale en présence de l'antigène qui sera utilisé dans la réaction. On dispose 15 tubes spéciaux sur un portoir placé parallèlement à celui sur lequel on a disposé les dilutions progressives du complément et on répartit dans chacun d'eux successivement :

. Complément dilué II gouttes de chacune des dilutions en commençant par la dilution la plus élevée (soit, 2 gouttes à 1/180, 2 gouttes à 1/160, etc.... jusqu'à 2 gouttes à 1/25);

. antigène (dilué selon le titrage effectué par la méthode de Boerner-Lukens, 1 goutte. Elle doit correspondre à deux unités d'antigène);

. Solution T.V. : 1 goutte.

Après une heure de séjour au bain-marie à 37°, on ajoute:

. mélange (préparé 10 minutes à l'avance) à parties égales d'hématies de la suspension à 2 % du culot et du sérum hémolytique contenant deux unités hémolytiques : 2 gouttes. On replace au bain-marie à 37° pour une heure, mais on fait une première lecture après 30 minutes et une deuxième après une heure.

L'unité de complément est donnée par la dilution qui provoque l'hémolyse totale après une heure.

Pour la réaction, on utilise deux unités, dans II gouttes.

b)- Réaction :

- Préparation des éléments :

. Dilution des sérums à expertiser et des sérums de référence :

Elle est faite au rhéomètre de VERNES, à partir d'une dilution différente selon que l'on adopte celle de 1/2, de 1/4 ou de 1/8 dans

le premier tube. La dilution de départ sera faite sous un volume d'au moins 0,4 ml (0,2 ml de sérum dans 0,2 ml de T.V. pour une dilution à $1/2$; 0,1 ml de sérum dans 0,3 de T.V. pour une dilution à $1/4$, etc...) pour permettre les passages par dilutions de double en double sous un volume de 0,2. On obtiendra ainsi les dilutions de $1/2$, $1/4$, $1/8$, $1/16$, jusqu'à $1/512$ et au-delà.

. Antigène :

Il est dilué de telle sorte qu'il contienne deux unités (soit la concentration double de celle qu'à donné le titrage effectué précédemment par la méthode de BOERNER-LUCKENS en présence d'un sérum de référence de titre connu).

. Complément :

On fera une dilution de telle sorte que II gouttes contiennent deux unités (soit deux fois plus concentrée que la dilution qui a permis l'hémolyse totale lors du titrage en présence d'antigène).

. Hématies :

Suspension à 2 % réalisée après contrôle à l'hématocrite.

On mélange à parties égales un volume de suspension et un volume de sérum hémolytique contenant deux unités hémolytiques, soit une solution deux fois plus concentrée que celle qui a donné l'hémolyse totale au titrage du S. H.

- Mise en place des éléments de la réaction :

On disposera pour chaque sérum autant de tubes spéciaux que de dilutions engagées dans la réaction plus deux destinés aux témoins-sérums (recherches du pouvoir anticomplémentaire du sérum à expertiser).

La galerie des 6 tubes ou plus de sérum dilué est placée parallèlement à celle préparée pour la réaction.

On porte avec la pipette compte-gouttes, à partir du der-

nier tube de sérum dilué (dilution maxima) I goutte dans le dernier tube réaction, puis ainsi de suite, I goutte de l'avant-dernier tube dans l'avant-dernier tube de réaction, etc... Arrivé au deuxième tube, on prélève le sérum dilué dont on introduit I goutte dans le deuxième tube réaction, et I goutte dans le deuxième tube témoin-sérum. Pour le premier, on opère de même.

On ajoute ensuite I goutte d'antigène, puis II gouttes de complément et pour les deux tubes témoin-sérum I goutte de solution T.V. au lieu d'antigène.

Mise en place des témoins généraux.

Ils sont destinés à contrôler le système hémolytique utilisé, à vérifier que le complément est bien présent à deux unités à la fin de la réaction, enfin que l'antigène n'a pas de pouvoir anticomplémentaire, ni de pouvoir hémolytique.

On dispose 10 tubes spéciaux.

Le neuvième recevra I goutte d'antigène et III gouttes de T.V.

Le dixième IV gouttes de T.V.

Quant aux quatre autres couples de tubes (témoins de l'activité du complément) chacun comporte I tube avec l'antigène (I goutte d'antigène + I goutte de T.V.) et I tube sans antigène (II gouttes de T.V.). Le premier couple recevra, dans chaque tube, 2 unités de complément dans II gouttes, le second couple 1,5 unité dans II gouttes, le troisième couple 1 unité dans II gouttes, le quatrième couple 0,75 unité dans II gouttes.

La réaction se présente comme suit (tableau)

- Lecture : s'exprime en croix (de 0 à 4 croix) traduisant l'opacité due aux hématies intactes, après remise en suspension (donc l'inverse de l'hémolyse).

On surveille le déroulement de la réaction et on fait une première lecture dès que l'hémolyse est totale dans les témoins généraux

(complément à 2 unités et à 1,5 unité) et les témoins-sérum.

On refait une deuxième lecture à la 30ème minute (*).

Si le tirage du complément a été convenable, il doit y avoir une hémolyse totale dans les témoins généraux contenant deux unités et 1,5 unité de complément. Elle sera totale ou subtotale dans les T.G. contenant 1 unité, et seulement partielle dans les T.G. contenant 0,75 unité.

*

*

*

(*) - On peut se contenter de la lecture à la 30ème minute, que nous préférons actuellement et qui nous a donné de très bons résultats.

- VALEUR DIAGNOSTIQUE DE LA REACTION DE FIX. DU C' -
DANS L'INFECTION POLIOMYELITIQUE NATURELLE

I- ETUDE PERSONNELLE -

Il nous faut préciser de suite, d'après des critères classiques fournis par les spécialistes les mieux documentés, en anticipant nécessairement sur les résultats que nous avons nous-mêmes obtenus et sur les conclusions que nous avons pu en tirer, dans quelles conditions nous avons admis que la réaction de Fix. du C' fournit un résultat positif.

- Nous considérerons que les sujets dans les sérums desquels nous avons pu mettre en évidence soit un titre de 64,
soit une "MONTÉE SIGNIFICATIVE", c'est-à-dire dans un sérum tardif une AUGMENTATION de la concentration des anticorps spécifiques, par rapport à celle trouvée dans un sérum précoce, AU MOINS EGALE à 4 FOIS, ont subi une infection récente ou actuelle dont l'ETIOLOGIE POLIOMYELITIQUE est HAUTEMENT PROBABLE.

- Nous admettrons que les titres de 16 ou 32 signent une infection d'origine poliomyélitique PROBABLE, datant au plus de DEUX ANS et dans la majorité des cas de MOINS de SIX MOIS.

Nous pourrions dans un certain nombre de cas, étayer cette suspicion, grâce au succès des tentatives d'ISOLEMENT DE POLIOVIRUS à partir des selles de ces mêmes sujets.

Il est bien entendu que nous essaierons, a posteriori, de contrôler le bien fondé de ces critères en discutant nos propres résultats et en les confrontant à d'autres travaux.

Sur ces bases, nous distinguerons, parmi ces patients :

. 69 sujets qui fournissent : une Fix. du C' POSITIVE ou PRESOMPTIVE,

un isolement de virus POSITIF : 58 types 1

6 types 2

5 types 3

• 39 sujets qui montrent :

une Fix. du C' NEGATIVE (titre < 16)

un isolement de virus POSITIF : 31 types 1

4 types 2

4 types 3

• 27 sujets chez lesquels : la Fix. du C' est POSITIVE ou PRESOMPTIVE
l'isolement NEGATIF

1°/- Fix. du C' POSITIVE ou PRESOMPTIVE et POLIOVIRUS ISOLE :

Les résultats obtenus sur 123 sérums provenant de ces 69 sujets, d'une part par la réaction de Fix. du C', d'autre part par les techniques d'isolement des entérovirus à partir des selles, sont réunis dans le tableau I. Ils sont accompagnés de l'âge, et du diagnostic clinique établi pour chaque patient.

Nous distinguerons :

a)- Les sujets dont les sérums ne sont testés qu'avec un AG de type 1 :

Ce groupe étant composé de 27 sujets qui hébergent tous dans leur intestin un poliovirus de type 1.

Cette étude incomplète s'explique d'une part parce que certains sérums ont été engagés dans nos réactions à une période où nous ne disposions pas d'AG de types 2 et 3 de qualité suffisante, et qui se trouvèrent épuisés ou altérés ensuite; d'autre part par le fait que certains sérums, en particulier de très jeunes enfants, n'ont pu être obtenus au départ en quantité suffisante.

Bien qu'il soit possible de faire entrer en ligne de compte ces résultats, puisque l'AG utilisé pour la recherche des anticorps sériques appartient au même type que celui isolé des selles de ces patients, nous les ferons figurer à part, car ils ne pourront contribuer à la discussion des résultats hétérotypiques.

- T A B L E A U I -

	NOM - PRENOM	AGE	FORME * CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv. **	TITRES des AC FIX. C'		
						Type 1	Type 2	Type 3
1	ANT... Fr.	6 ans	M	1	2 15	32 16		
2	ANT... P.	11 ans	M	1	2	16		
3	AUF... J.P.	14 ans	M	1	13	16		
4	AZR... J.	3 ans	P	1	8	16		
5	AME... A.	8 ans	M	1	2 12	32 16	16 16	32 16
6	BAL... S.	2 ans	P	1	7	32		
7	BAR... B.	3 ans	M	1	3	256		
8	BUR... A.	?	Fruste	1	26	16		
9	BOU... D.	2 ans	P	1	2 13	64 64		
10	BRU... D.	7 ans	PF	3	12	16	<8	32
11	BER... M.	2 ans	P	1	5 14	32 32	<8 <8	<8 <8
12	BEG... P.	31 ans	P	1	10	16	32	<8
13	BUI... F.	1 an	P	3	11	<8	<8	64
14	BEC... J.	4ans	P	1	8 21 32	16 16 16	16 16 8	32 16 16
15	BOU... M.	4 ans	P	1	11 22	8 <8	8 <8	8 8
16	BRO... C.	18 mois	P	2	3 17	<8 <8	<8 16	8 8
17	COR... M.	2 ans	P	1	4 11	8 32		
18	CHO... R.	2 ans	P	1	7 15	64 16		

* Bien vouloir lire pour P : poliomyélite antérieure aigue - M : méningite
PF: paralysie faciale.

** Compté à partir du jour probable de début de la maladie.

(Suite Tableau I)

	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv.	TITRES des AC FIX. C'		
						Type 1	Type 2	Type 3
19	CAR... D.	5 ans	P	1	8 16	8 16	<8 <8	<8 <8
20	CHA... V.	3 ans	M	1	9 22	8 32	<8 <8	<8 <8
21	CHE... J.	11 ans	P	3	7	16	<8	32
22	CHA... A.	4 ans	PF	2	6 26	<8 <8	16 8	<8 <8
23	COT... A.	?	P	1	11 80	16 16	8 8	32 32
24	COU... J.P.	6 mois	?	1	7	64	<8	<8
25	CHA... P.	2 ans	?	1	5 12 22	16 32 32	8 8 <8	16 16 16
26	CAP... J.P.	4 ans	M	1	3 30	32 16	16 8	64 16
27	CHE... A.	11 ans	?	1	7 12	32 16	16 8	32 16
28	DEM... M.	4 ans	P	1	3	64		
29	DON... R.	8 ans	M	1	24 62	32 64		
30	DAI... J.F.	24 ans	M	1	3	128		
31	DEV... R.	2 ans	P	1	7	64		
32	DAV.... M.	16 mois	P	1	7 15	16 128		
33	DUB... M.	2 ans	P	1	6 15 25	<8 32 32	<8 <8 <8	<8 <8 <8
34	DEL... B.	16 mois	P	2	60 90	<8 <8	32 8	<8 <8
35	DIM... A.	3 ans	M	2	3 17	8 <8	32 8	64 32

(Suite tableau I)

	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv.	TITRES des AC FIX. C'		
						Type 1	Type 2	Type 3
36	GIR... C.	11 ans	M	1	4 30	128 64		
37	GIR... J.M.	7 ans	M	1	2	32		
38	GRA... B.	2 ans	P	1	4	64		
39	GAR... J.	4 ans	PF	3	14 30	<8 <8	8 8	16 8
40	JIN... J.C.	?	?	1	7 20	128 64	8 8	32 32
41	KOH... H.	16 mois	P	1	8 19	64 32	32 32	32 128
42	LOR... B.	?	M	1	8 18	128 64	<8 <8	32 32
43	LAC... G.	6 mois	P	2	9 30 38	<8 <8 <8	8 32 32	<8 <8 <8
44	MIC... C.	4 mois	P	1	2 9 19 32	<8 16 8 8		
45	MAR... D.	4 ans	P	1	8 17	128 8		
46	MAS... M.	11 ans	P	1	9 16	32 16	<8 <8	32 16
47	MAN... B.	3 ans	M	2	15 60 120	32 <8 <8	16 16 <8	64 8 <8
48	MON... R.	13 ans	M	1	8 20	16 16	<8 <8	16 16
49	MER... J.	6 ans	M	1	6 16	16 16	8 8	8 16
50	MOR... G.	?	P	1	12 21	16 16	16 8	32 8

(suite tableau I)

	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv.	TITRES des AC FIX. C'		
						Type 1	Type 2	Type 3
51	MAR... J.Y.	7 ans	M	1	4 20	128 32	64 16	64 32
52	NEG... L.	2 ans	Coma	1	4	128		
53	PHI... E.	15 mois	P	1	10	32		
54	POT... J.	4 ans	Ataxie	1	5	32		
55	PAU... M.F.	6 ans	P	1	5 16	32 32		
56	POU... P.	14 ans	P	1	4	16		
57	POL... J.	13 ans	P	1	8 19 80	<8 <8 32	<8 <8 <8	8 8 8
58	PUY... J.	17 ans	M	1	1 18	<8 128	<8 32	<8 128
59	PAU... J.	4 ans	P ré- gressive	1	27	16	16	32
60	ROS... C.	?	M	1	1	16		
61	ROS... J.	?	P	1	3	64		
62	RAM... A.	6 ans	P	1	4 34	32 8	16 <8	64 8
63	ROY... C.	2 ans	P	1	10 18 39	32 32 16	<8 <8 <8	8 8 8
64	ROI... Y.	?	?	1	3 7	16 16	8 8	32 16
65	SUR... M.	4 ans	P	1	6 17	32 32		
66	SAU... N.	?	P	3	8 18	<8 <8	<8 <8	16 128
67	TUY... C.	8 ans	angine	1	3 18	<8 16	<8 <8	8 8
68	TOU... M.N.	2 ans	P	1	6 20	32 16	32 <8	64 16
69	BRE... A.	1 an	P	1	5	64	<8	<8

Parmi ces 27 sujets :

- 14 permettent de conclure, avec une quasi certitude, à une infection poliomyélitique récente - et sans doute actuelle - grâce à la mise en évidence soit d'un titre ≥ 64 , soit d'une montée significative des anticorps (≥ 4 fois le titre initial) lorsque nous disposons d'un couple de sérums prélevés à des moments convenables (réactions POSITIVES).

- 13 présentent un titre d'anticorps ≤ 32 , ou un titre stationnaire ou montrent une augmentation insuffisante de ces anticorps (< 4 fois) jugée sur un couple de sérums.

Chez ce second groupe on ne pourra donc avancer que la probabilité d'une infection d'origine poliomyélitique, datant sans doute de moins de 6 mois mais peut être de deux ans. Rappelons cependant que la présence chez ces malades d'un poliovirus, en corrélation avec ces taux d'anticorps sériques, augmente la probabilité de la responsabilité du virus isolé, dans l'affection actuelle (*). (Réactions PRESOMPTIVES).

b)- Ceux dont les SERUMS sont testés avec les 3 TYPES ANTIGENIQUES :

Parmi ces 42 sujets :

- 11 fournissent des résultats HOMOTYPIQUES les anticorps décelés correspondant au type de poliovirus isolé dans les selles.

. 7 présentent les critères d'une infection TRES RECENTE (cas 13, 20, 24, 33, 43, 66, 69). Il est à remarquer que tous ces cas sont de très jeunes enfants (moins de 3 ans).

. 4 sont des "PROBABLES" dont le moment de l'infection est peut-être assez ancien (cas 11, 19, 22, 34).

- 31 montrent des réponses HETEROTYPIQUES :

. 6 donnent, DANS LE TYPE ISOLE :

soit le titre le plus élevé (au moins 4 fois supérieur aux autres titres) quand on ne dispose que d'un sérum,

(*) - Par la suite, nous appellerons les sujets répondant à ces critères, des "PROBABLES".

soit le titre stationnaire le plus élevé (au moins 4 fois) ou ≥ 4 fois au titre initial quand on dispose de deux sérums au moins, et permettent de faire le diagnostic du TYPE en cause, ainsi d'ailleurs que celui d'une infection poliomyélitique TRES RECENTE. (cas 16, 40, 42, 57, 63, 67).

. 25 ne permettent pas le diagnostic de TYPE avec une sécurité suffisante. Parmi eux :

3 seulement sont classés : Inf. Polio. TRES RECENTE (cas 16, 51, 58).

En ce qui concerne le diagnostic de TYPE :

6 ont des anticorps homotypiques à titres PLUS ELEVES que les hétérotypiques, mais les différences de ~~titres~~ ne peuvent être considérées comme significatives. Nous pouvons tout au plus admettre une orientation vers le type en cause. (cas 10, 15, 21, 25, 39, 51).

19 sont de véritables "hétérotypiques", montrant soit le même titre dans au moins deux types, soit un titre plus élevé dans un type autre que celui isolé (cas 4, 5, 12, 14, 23, 26, 27, 35, 41, 46, 47, 48, 49, 50, 58, 59, 62, 64, 67).

DISCUSSION : Nous constatons donc que la réaction de Fix. du C' donne :

- le diagnostic de quasi certitude d'une affection poliomyélitique très récente et probablement actuelle est posé dans 30 cas sur 69 (dont 18 cas sur 35 de formes TYPIQUES).

- Le TYPE du poliovirus responsable en même temps que le diagnostic d'infection très récente est donné dans 17 cas sur 42.

Nous avons réuni (voir PHOTO 1) l'ensemble des sérums étudiés (123 sérums pour les 69 sujets) pour tenter de déterminer le rapport existant entre le moment de l'infection probable et le TITRE trouvé :

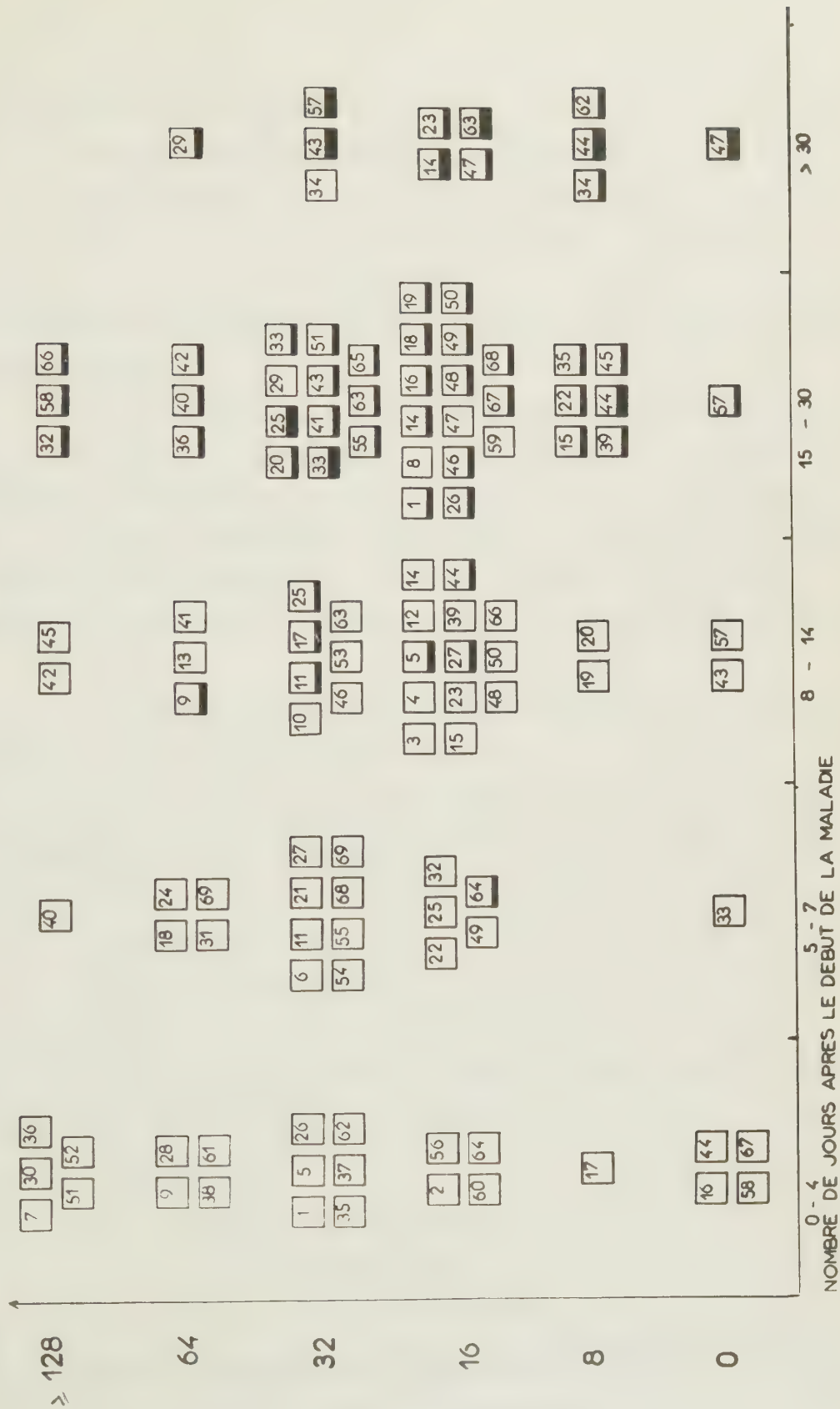
DYNAMIQUE des ANTICORPS FIX. C' CHEZ 69 MALADES [numérotés de 1 à 69] AVEC POLIO -

VIRUS ISOLE DANS LES SELLES

1er SERUM
2è
3è

TITRE DE L'ANTICORPS
HOMOLOGUE

PHOTO 1



A - Moment d'obtention du titre 16

a)- Entre le début de la maladie et le 4ème jour :

Sur 24 sérums : 5 seulement ont un titre ≤ 8

10 ont un titre allant de 16 à 64

9 ont un titre ≥ 64

résultats qui paraissent surprenants vu la précocité des prélèvements. Nous proposons deux explications :

- Les observations cliniques concernant l'ensemble des formes apparentes de la maladie, considèrent souvent comme début de la maladie le JOUR d'APPARITION du SIGNE MAJEUR (par exemple la paralysie) ce qui ne manque pas de fausser les données, sachant que le début VRAI de la maladie se situe en général UNE SEMAINE AVANT l'apparition du syndrome spécifique. De ce fait un certain nombre de prélèvements sont "biologiquement moins précoces" qu'on ne le pense.

- Certains lots d'AG que nous avons utilisés étaient susceptibles de contenir encore une partie de l'antigène H.

b)- Entre 5 et 30 jours après le début de la maladie : les titres obtenus étant proportionnellement comparables dans les trois périodes couvrant ce délai nous les grouperons ici. Nous constatons que, parmi ces 87 sérums :

12 ont un titre ≤ 8

59 ont un titre de 16 à 64

16 ont un titre ≥ 64

La proportion de diagnostics possibles d'une infection poliomyélitique PROBABLE ou CERTAINE est donc dans cette période de 75/87 (86 %).

c)- Après 30 jours :

Sur 12 sérums : 4 ont un titre ≤ 8

7 ont un titre de 16 à 64

1 a un titre ≥ 64

B - MOMENTS où sont trouvés des titres non significatifs (≤ 8)

Sur 21 sérums ayant un taux bas d'anticorps :

10 prélevés entre le 1er et le 14ème jour, montent leur titre PLUS TARD,

10 sur 11 prélevés à partir du 15ème jour, ont un TITRE PLUS ELEVE PLUS TOT.

On notera donc en ce qui concerne l'OBTENTION des TITRES ≥ 16 que:

Entre le 1er et le 4ème jour : une proportion importante de sujets le possèdent dans leur sérum.

Entre le 5ème et le 30ème jour: 86 % l'ont acquis (période optimum).

Après le 30ème un seul sujet (cas 57) qui n'avait pas encore d'anticorps à un titre décelable au 19ème jour, voit apparaître tardivement un titre présumé.

On constate aussi que la DIMINUTION des ANTICORPS s'amorce chez une partie notable des sujets à partir du 15ème jour.

Nous aurons plus loin l'occasion d'établir des comparaisons avec les conclusions proposées par un certain nombre d'auteurs.

2°/- Poliovirus isolé mais Fix. du C' négative (Tableau II)

39 des sujets étudiés n'ont pas dans leurs sérums d'anticorps Fix. le C' décelables (titre < 8), alors que nous avons pu isoler dans tous ces cas un poliovirus dans les selles.

Nous tenterons de dégager dans ce groupe, ce qui semble revenir d'une part à la DEFAILLANCE de la réaction de Fix. du C', d'autre part les arguments qui peuvent justifier sa négativité dans les cas où nous estimons qu'elle n'est pas en cause.

Nous distinguerons parmi ces patients :

a)- Les sujets "CONTACTS" : 3 cas (103-105-118). Il est possible que ces individus, n'ayant présenté aucun signe clinique, ont fait - plutôt qu'une in

- T A B L E A U I I -

	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv.	TITRES des AC FIX. C ⁵		
						Type 1	Type 2	Type
97	BOU... D.	10 ans	P	1	14	8		
98	BAB... B.	1 an	M	1	5	<8		
99	BES... A.	3 ans	P	1	5 16	<8 8		
100	BER... J.	4 ans	P	1	2 9	8 8		
101	BOU... S.	2 ans	P	1	2 22	8 <8	<8 <8	8 <8
102	BAR... A.	2 ans	Hypoto- nie MID	1	5 19	<8 <8	<8 <8	16 <8
103	BAR... B.	3 ans	Contact	1	2 16	8 <8	8 <8	32 8
104	BUT... M.	8 mois	P	1	4	<8	<8	8
105	COP... A.	14 ans	Contact	1	5	8		
106	CAT... P.	3 ans	M	1	7	<8		
107	COL... J.	8 ans	P	1	3 9	<8 <8	<8 <8	<8 <8
108	CHE... F.	?	Laryn- gite	2	5	<8	<8	<8
109	COR... L.	29 ans	PF	1	10 17	<8 <8	<8 <8	8 8
110	DIB... J.M.	?	P	1	9	8		
111	DEL... J.	3 ans	Convul- sions	1	3	<8		
112	DEP... J.	4 ans	P	1	3	8		
113	DJE... A.	?	Bron- chite	1	7 14	<8 <8		
114	DEM... J.M.	17 mois	P	1	18 26	<8 <8	<8 <8	<8 <8

(Suite tableau II)

	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv.	TITRES des AC Fix. C'		
						Type 1	Type 2	Type 3
115	DUR... G.	1 an	P	2	4	< 8	< 8	< 8
116	DUD... A.	16 mois	P	1	5	8	< 8	< 8
117	GER... P.	6 ans	M	1	10 13	8 8	< 8 < 8	< 8 < 8
118	GUE... C.	4 ans	Contact	1	10 16	< 8 < 8	< 8 < 8	< 8 8
119	HAV... G.	17 ans	M	3	5 31	< 8 < 8	< 8 < 8	< 8 < 8
120	KUS... M.	3 ans	?	1	10 18 26	8 < 8 < 8	8 < 8 < 8	16 8 < 8
121	LAR... M.	7 ans	M	3	8	< 8	< 8	< 8
122	MOU... P.	12 ans	M	1	12 22	< 8 < 8	< 8 < 8	8 8
123	MON... H.	16 mois	P	1	13 22	< 8 8	< 8 < 8	8 < 8
124	MON... P.	12 ans	M	1	15	< 8	< 8	8
125	MAR... J.	6 ans	M	1	12	< 8	< 8	< 8
126	MAR... M.	3 ans	PF	1	6 27	< 8 < 8	< 8 < 8	< 8 < 8
127	MAS... M.	8 ans	Coma	2	5 15	< 8 < 8	< 8 < 8	< 8 < 8
128	PAD... Y.	1 an	P	3	3	< 8	< 8	< 8
129	PRE... Y.	3 ans	?	1	4 10	< 8 8	< 8 < 8	< 8 16
130	PRU... J.M.	9 ans	M	3	5 14	< 8 < 8	< 8 < 8	< 8 < 8
131	STE... G.	?	?	2	5 19	< 8 8	8 < 8	8 < 8
132	VIA... G.	16 mois	P	1	1	< 8	< 8	< 8
133	WIC... G.	20 mois	PF	1	6 20	< 8 < 8	< 8 16	< 8 < 8

(Suite tableau II)

	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	VIRUS isolé (type)	JOURS de prélèv.	TITRES des AC Fix. C'		
						Type 1	Type 2	Type 3
134	DES... E.	3 ans	PF	1	13	<8	8	16
135	ARC... G.	6 ans	Pneumo- pathie	1	9	<8	<8	<8
					19	<8	<8	<8
					50	<8	<8	<8

tion inapparente - un simple PORTAGE de virus, ce dernier n'ayant accompli qu'un transit dans leur organisme sans déclencher une infection vraie, et par voie de conséquence aucune réaction immunologique.

b)- Sujets atteints d'affections d'étiologie non poliomyélitique possible :

13 cas chez lesquels la présence d'un poliovirus pourrait s'expliquer :

- soit, ici aussi, par un PORTAGE, sachant combien sont fréquentes les souches de virus dans les services hospitaliers,

- soit - en se rappelant qu'un pourcentage non négligeable des sujets atteints d'infection poliomyélitique peuvent éliminer du virus dans les selles pendant PLUSIEURS MOIS - par le fait que ces sujets ayant subi antérieurement une telle infection sous forme inapparente, continuent à éliminer le virus pendant la période d'état d'une maladie causée par un AUTRE AGENT INFECTIEUX - . Les anticorps poliomyélitiques sont alors au moment du prélèvement en DECLIN ou en train de DISPARAITRE .

Peuvent être classés dans cette rubrique :

. 9 cas de MENINGITES : (119, 122, 130 ainsi que 98, 106, 117, 121, 124, 125) avec cette remarque concernant les 6 derniers cas nommés que nous n'avons disposé que d'un seul sérum ou de deux sérums très rapprochés. Une éventuelle apparition significative des anticorps Fix. le C' a pu ne pas être détectée par défaut d'expertise au MOMENT CONVENABLE.

. 4 cas de PARALYSIES FACIALES : on peut aussi avancer une étiologie non poliomyélitique pour les cas 109 et 126, mais l'interprétation des sujets 133 et 134 est plus délicate.

Le cas 133 chez lequel est isolé un type 1 montre une augmentation significative de son taux d'anticorps en type 2. Il est possible que ce sujet ait présenté une atteinte atypique par un type 2, le virus trouvé dans les selles étant une "souche d'hôpital" ayant masqué à l'isolement le véritable responsable.

Le cas 134 est d'explication encore plus difficile en l'absence d'une montée du taux d'anticorps et vue la seule mise en évidence d'un titre faible en anticorps Fix. le C' de type 3, alors que le virus isolé est de type 1. Nous pourrions supposer un PORTAGE chez un sujet atteint d'une affection NON POLIOMYELITIQUE et possédant un taux RESIDUEL d'anticorps Fix. le C' résultant d'une infection poliomyélitique relativement lointaine.

c)- Sujets atteints d'affections d'étiologie non poliomyélitique probable :

5 sujets présentent des tableaux cliniques n'évoquant pas une étiologie poliomyélitique possible peuvent être classés ici (cas 108, 111, 113, 127, 135).

d)- P.A.A. typiques :

15 cas chez lesquels est diagnostiquée l'infection poliomyélitique indiscutable, sur le syndrome clinique et l'électromyogramme.

- Cas où la négativité de la réaction de Fix. du C' peut s'expliquer par l'INSUFFISANCE des PRELEVEMENTS :

. 3 cas pour lesquels un seul sérum PRECOCE est obtenu, prélevé dans les 3 premiers jours de la maladie (112, 128, 132),

. 5 cas pour lesquels nous ne disposions que d'UN SEUL PRELEVEMENT :

3 précoces au 4ème ou 5ème jour (104, 115, 116),

2 à 9 et 14 jours (97 et 110).

les 3 premiers pouvant parfaitement justifier leur négativité par une élaboration non encore amorcée ou insuffisante de leurs anticorps; les 2 derniers étant peut-être explicables par une apparition tardive de ces mêmes anticorps ou au contraire par leur disparition rapide.

- 7 cas particulièrement intéressants : en effet nous avons disposé ici de DEUX PRELEVEMENTS pour chaque patient :

Dans 2 cas (100, 107) les sérums sont un peu PRECOCES.

Dans 2 cas (114, 123) ils sont au contraire tous deux
TARDIFS,

Dans 3 cas (101, 102, 103), ils sont prélevés à des moments
CORRECTS.

Ces 7 exemples nous semblent représenter - plus qu'un défaut absolu d'élaboration d'anticorps - des cas démonstratifs de l'évolution capricieuse dans le temps des anticorps Fix. le C' qui, chez une minorité de sujets, peuvent apparaître, atteindre un titre significatif et décroître à des moments très variables. On peut constater de ce fait l'obligation dans laquelle on se trouvera parfois d'obtenir non pas seulement deux mais TROIS prélèvements. Nous reparlerons de ce problème lors de la discussion de nos résultats globaux en confrontation avec d'autres travaux.

e)- Diagnostic clinique non communiqué : 3 cas

Le sujet 120, dont les sérums sont très tardifs est soit en période de déclin des anticorps, soit un simple porteur de virus.

Le sujet 129 semble au contraire amorcer une augmentation de son titre (avec anticorps hétérologues). Un 3ème sérum aurait peut-être permis la mise en évidence d'un titre significatif.

Le sujet 131 fait plus probablement une affection non poliomyélitique.

3°/- Fixation du C' positive ou présomptive sans isolement de virus

Les résultats obtenus chez 27 sujets sont collectés dans le tableau III et vont rendre compte des difficultés auxquelles on se heurte lorsque la Fix. du C' ne donne pas un résultat indiscutable et que l'on se trouve privé d'autre part de l'orientation donnée soit par l'isolement d'un virus, soit par l'existence d'un syndrome clinique typiquement évocateur de l'infection poliomyélitique.

a)- Poliomyélites cliniquement typiques : 10 sujets

- T A B L E A U I I I -

N°	NOM - PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	JOUR Prélèv. SELLES	VIRUS isolé	JOUR Prélèv. SERUM	TITRES DES AC FIX. C'		
							Type 1	Type 2	Type 3
70	BUR... B.	3 mois	P	4	0	4 14	128 64		
71	BUR... M.F.	1 an	P	NF*	0	9 24	32 16		
72	BOZ... M.F.	18 mois	P	NF	0	7	32	<8	64
73	CON... D.	2 ans	P	15	0	50	32		
74	DEV... J.	1 mois	P	12	0	12	32		
75	MER... J.	18 mois	P	6	0	32 50	16 8		
76	PON... J.P.	14 mois	P	NF		6 14 24	16 64 64		
77	PAG... A.	2 ans	P	12	0	12	16		
78	VAP... P.	1 an	P	55	0	2 55	32 8		
79	VES... A.	2 ans	P	53	0	50 60	8 8	<8 <8	16 8
80	AUV... M.	22 ans	Fièvre	NF		5 26	16 16	8 <8	64 32
81	AVI... G.	12 ans	PF	NF		8 15	128 32	64 16	64 32
82	BAU... B.	29 ans	P. voile du palais	7	0	7 67	16 8		
83	FER... L.	17 ans	Angine	12	0	9 27	<8 32		
84	LEF... M.	6 ans	Coma	21	0	21 46	<8 16	32 8	32 16
85	PRA... M.	?	P. voile du palais	NF		20 32 36	<8 <8 64		
86	PAC... V.	4 ans	Angine	NF		3 14 60	16 64 64	<8 <8 16	32 64 16

*NF : Aucune tentative d'isolement de virus n'a été mise en oeuvre.

(Suite tableau III)

N°	NOM-PRENOM	AGE	FORME CLINIQUE	JOUR Prélèv. SELLES	VIRUS isolé	JOUR Prélèv. SERUM	TITRES DES AC FIX. C'		
							Type 1	Type 2	Type 3
87	SCA... G.	10 ans	PF	NF		12 25	16 16	8 8	32 32
88	TRO... M.	18 mois	Angine	5	Virus non polio	5 20	<8 <8	<8 <8	64 64
89	ACU... M.	6 ans	M	NF		11	32		
90	BEA... A.	10 ans	M	7	Virus non polio	7	<8	<8	32
91	COR... A.	3 ans	M	5	0	5 70	<8 8	<8 <8	16 16
92	COU... J.P.	27 ans	M	NF		9	32	8	64
93	FAU... C.	?	M	NF		2 12	<8 64	<8 <8	<8 32
94	PEY... F.	14 ans	M	NF		4	16		
95	PEN... S.	?	M	NF		6 13	32 32		
96	SER... C.	15 ans	M	NF		11	64		

Pour 7 d'entre-eux on fait une tentative d'isolement de virus à partir des selles.

- Peut-on expliquer l'ECHEC des tentatives d'isolement ?

Pour 2 sujets (78-79) les prélèvements sont très TARDIFS, à une époque où 80 % des individus ont cessé d'éliminer du virus.

Pour 5 sujets les selles sont recueillies à des dates convenables. Il nous faut signaler que certaines techniques d'isolement ont été mises en oeuvre sur cellules HeLa moins sensibles que les cellules de REIN de SINGE utilisées par nous dans la plupart des cas. En outre, comme le signale (LENNETTE (E.) et SCHMIDT (N.), 1957) aucun auteur n'est parvenu à mettre au point une méthode biologique infaillible, permettant de réussir dans 100 % des cas l'isolement des poliovirus, même à des périodes où il doit régulièrement se trouver en quantité notable dans le tractus intestinal.

- La confirmation du diagnostic clinique :

. est apportée par la réaction de Fix. du C' dans les cas où elle met en évidence soit un titre d'anticorps spécifiques ≥ 64 , soit une élévation du titre d'un second sérum égale au moins à 4 fois le titre initial,

3 cas (70, 72, 76),

. est discutable chez les 7 autres sujets. Soulignons cependant que dans 3 cas (73, 75, 79) seuls nous sont parvenus des sérums très TARDIFS.

- Le diagnostic de TYPE ne peut être fait dans les 2 seuls cas testés avec les 3 types antigéniques.

b)- Cas pouvant correspondre à une infection polio-atypique: 17 sujets .

- La tentative d'isolement d'un virus est négative dans 4 cas (82, 83, 84, 91). Ici aussi, les titres ≤ 32 pouvant correspondre à des reliquats d'anticorps signant une infection relativement ancienne, nous n'obtenons une forte présomption que dans le cas 83

- L'isolement d'un ENTEROVIRUS non POLIO est obtenu dans 2 cas. Ces virus n'ont pas été identifiés.

Le cas 88 est particulièrement intéressant : l'isolement négatif au 5ème jour est positif au 20ème jour (Entérovirus non poliomyélitique) La Fix. du C' met en évidence un haut titre stationnaire d'anticorps de type 3. En l'absence de découverte d'un poliovirus et en se référant à la pauvreté des signes cliniques, on ne pourra que proposer deux possibilités :

. ou bien il s'agit d'une authentique infection poliomyélitique de type 3 avec échec de l'isolement au 5ème jour, suivi le 20ème jour de la découverte d'un entérovirus FORTE après évacuation ou masquage par phénomène d'interférence du poliovirus responsable de la maladie,

. ou bien il s'agit d'une infection par entérovirus non poliomyélitique dont l'isolement a été manqué au 5ème jour, à structure antigénique proche de celles des poliovirus, et qui aurait déclenché par processus anamnétique une remontée du titre d'anticorps, correspondant au type de poliovirus ayant infecté antérieurement le sujet.

Le cas 90 admet les mêmes réserves.

- Cas où l'isolement d'un virus n'a pas été tenté :

Dans ce groupe on devra penser à la possibilité d'une infection par entérovirus non poliomyélitique possible, avec phénomène de RAPPEL des anticorps. Cette restriction faite :

Dans 7 cas, la réaction de Fix. de C' nous fournit une FORTE PROBABILITE pour une infection d'origine poliomyélitique (80, 81, 85, 86, 92, 93, 96).

Dans 4 cas, nous n'obtenons qu'une PRESOMPTION (87, 89, 94, 95).

c)- Le diagnostic du type le plus probable :

ne peut être proposé que dans 12 cas sur 27 testés vis-à-vis des 3 types antigéniques.

Le cas 80 peut être rapporté à un type 3.

Le cas 84 peut être rapporté à un type 1.

Le cas 86 peut être rapporté à un type 1.

Le cas 88 peut être rapporté à un type 3.

Donc la détermination du type n'est possible que dans 4 cas sur 12.

Il est remarquable que seul le sujet 88, enfant très jeune, certainement PRIMAINFECTÉ donne une réponse HOMOTYPIQUE, alors que chez les patients plus âgés se multiplient les HETEROTYPIES, observation qui semble confirmer la théorie des rappels peu spécifiques par infections répétées.

II - AUTRES TRAVAUX -

Parmi les travaux effectués à l'aide d'antigènes vivants, trois nous paraissent réunir les éléments et la rigueur nécessaires pour qu'une confrontation valable puisse être réalisée entre eux et nos résultats. Il est en effet malaisé de faire entrer en ligne de compte des résultats obtenus par des techniques dont les modalités, les critères de positivité, les dates de prélèvements etc.... sont incomplètement ou ne sont pas précisés. Il nous paraît d'autre part prudent de ne pas tirer de conclusions générales d'enquêtes portant sur un nombre trop réduit d'individus. Nous établirons notre confrontation avec les travaux de N. SCHMIDT et E. LENNETTE (1957) de C.A. MILLER et J. BAUTHEISTER (1955) de W. SCHMIDT et W. HOPKEN (1962).

A - MATERIEL - METHODES -

1°/- SCHMIDT et LENNETTE utilisent l'AG précédemment décrit (voir chapitre "ANTIGENES") sans traitement pouvant détruire son pouvoir infectieux.

- Les sérums témoins sont des sérums de singes hyperimmunisés ou mieux des sérums humains homotypiques de haut titre.

- Les sérums testés proviennent de 69 malades pour lesquels le diagnostic clinique de poliomyélite a été porté. Les prélèvements ont pu être obtenus aux 3ème, 7ème, 10ème, 14ème, 21ème, 30ème, 45ème jours, aux 2ème, 3ème

6ème, 9ème, 12ème, 18ème, 24ème mois. On conçoit qu'une excellente étude de la dynamique des anticorps ait été réalisable dans ces conditions.

- La réaction de Fix. du C' pratiquée est une macrométhode en tube, inspirée de celle de KOLMER.

2°/- MILLER et BAUMEISTER utilisent un AG vivant, non concentré, non purifié.

- Les sérums témoins sont choisis comme ceux des auteurs précédents.

- Les sérums testés sont prélevés, à intervalles réguliers, durant une période de 18 mois, chez 14 enfants atteints de poliomyélite.

- La réaction de Fix. du C' pratiquée est la microméthode sur plaques de FULTON et DUMBELL (1949).

3°/- W. SCHMIDT et HOPKEN utilisent dans une étude comparative, à côté d'AG H un AG N "natif". Nous n'examinerons que les résultats obtenus avec ce dernier.

- Les sérums témoins sont des sérums de ~~singes~~ hyperimmunisés.

- Les sérums expertisés proviennent de 60 sujets atteints de poliomyélite pour chacun desquels deux prélèvements ont été réalisés à des moments divers et séparés par des intervalles de temps assez variables d'un individu à l'autre.

- La réaction de Fix. du C' employée est celle de SCHMIDT et LENNETTE.

B - RESULTATS -

1°/- N. SCHMIDT et E. LENNETTE sont à ~~or~~éditer de l'étude la plus remarquable dont nous pouvons résumer ainsi les conclusions :

- L'apparition d'un titre d'AC Fix. C' ≥ 16 se situe dans les 30 premiers jours après le début de la maladie, dans 60 à 70 % des cas, ce titre

est rarement acquis avant le 3ème jour. Entre ces deux limites, ce moment est très variable d'un individu à l'autre et l'on peut seulement dire que chez 65 % des malades, un titre d'anticorps ≥ 16 apparaît entre le 3ème et le 30ème jour. Les 35 % non compris dans ce groupe, n'atteignent ce titre qu'entre le 30ème et le 60ème jour, plus rarement entre le 60ème et le 90ème jour.

- L'acquisition du titre maximum d'anticorps est obtenu en 7 jours chez 10 % des individus, 14 jours chez 22 %, 30 jours chez 50 % et en 3 mois chez la presque totalité des sujets. Ce fait souligne la plus grande lenteur de développement des AC Fix le C' par rapport aux AC neutralisants qui ont déjà atteint leur titre maximum avant le 3ème jour dans près de 60 % des cas.

- La persistance d'un titre ≥ 16 peut se constater chez 67 % des sujets, entre 1 et 2 mois, 74 % entre 2 et 3 mois, 64 % entre 3 et 6 mois, 37 % entre 6 mois et 1 an, 24 % entre 1 an et 18 mois, 14 % entre 18 mois et 2 ans, et seulement 16 % après 2 ans. Il est à remarquer que certains malades commencent à perdre leurs anticorps Fix. le C' alors que d'autres n'ont pas encore atteint leur titre maximum. D'autre part, on peut noter que plus de 60 % des sujets ont vu leur titre d'anticorps tomber en dessous de 16 en moins de 6 mois, ce qui confirme la disparition plus rapide des AC Fix. le C' par rapport aux AC neutralisants qui persistent, à titres souvent importants, dans les sérums prélevés deux ans après le début de la maladie.

- L'apparition d'une montée significative du titre (≥ 4 fois)

- . a été constatée chez 66 % des individus testés
dont 34 % avant le 30ème jour
32 % après le 30ème jour,
- . 30 % n'ont montré que des titres stationnaires,
- . 4 % n'ont jamais atteint un titre de 16.

- L'étude parallèle des AC neutralisants a permis de constater une montée significative chez seulement 42 % des sujets

dont 35 % avant le 30ème jour
7 % après le 30ème jour,

- . 58 % ont gardé des titres stationnaires.

- L'étude des réactions hétérotypiques : est faite sur les 43 malades chez lesquels fut isolé un virus type 1.

Les AC hétérotypiques Fix. le C' en type 2 et 3 sont trouvés respectivement dans 12 % et 35 % des cas. Ils apparaissent en général simultanément avec les homotypiques; leur titre est habituellement plus bas que celui des homotypiques, pourtant il arrive qu'il soit plus élevé (5 % en type 3) ou égal (7 % en type 3). Leur titre reste STATIONNAIRE pendant la période classique de prélèvement mais il arrive dans certains cas qu'il s'élève. Ils disparaissent (< 4) en moins de 6 mois dans 64 % des cas, mais 10 % des sujets perdent leurs anticorps homotypiques dans le même temps.

En ce qui concerne les AC NEUTRALISANTS, les hétérotypies sont plus fréquentes (28 % en type 2 - 37 % en type 3).

2°/- C. MILLER et J. BAUMEISTER déduisent de leurs recherches que :

- L'apparition des AC Fix. le C' a lieu en général pendant la première semaine mais peut être dans certains cas nettement plus tardive (1 cas au 114ème jour).

- L'acquisition du titre maximum est obtenue dans les 3 premières semaines dans 12 cas sur 14. Ce titre maximum est très variable (de 8 à 256).

- Une montée significative du titre d'AC homotypique est observée dans 6 cas sur 14.

- Leur persistance est le plus souvent supérieure à 100 jours. Le titre diminue ensuite en règle, mais peut demeurer ≥ 16 après le 500ème jour dans de rares cas (1 sujet).

- Les réactions hétérotypiques sont constatées chez 12 sujets sur 14 dont 9 ont des AC dans les 3 types. Sur 6 individus chez lesquels un virus de type 1 est isolé, 4 ont des AC en type 3 à un titre égal au titre en AC de type 1. Sur 10 sujets qui ont encore des AC après 100 jours, 5 ont un titre égal en homotypique et en hétérotypique et 1 n'a plus que des AC hétérotypiques.

- Les AC neutralisants sont à titre élevé dès le 2ème jour de la maladie et les montées sont de ce fait rarement observées. Ils sont plus spécifiques puisque sur les 14 cas, 2 seulement montrent une hétérotypie.

3°/- W. SCHMIDT et W. HOPKIN notant le manque de spécificité des AG H et la non observation d'augmentation du titre des sérums tardifs par rapport aux sérums précoces avec ces AG obtiennent avec des AG N des résultats sur lesquels la dynamique des AC Fix. C' ne peut être étudiée, chaque malade n'ayant fourni que 2 sérums, prélevés dans les mêmes délais. Il est donc impossible de suivre l'évolution dans le temps de ces AC. De plus ces auteurs admettent comme significative une augmentation du titre de 2 fois seulement, ce qui restreint la portée de leurs conclusions.

Peuvent être discutées : la positivité de la Fix. du C' d'une part, les réactions hétérotypiques d'autre part.

a)- Sur 30 malades chez lesquels est isolé un type 1, les couples de sérums permettent de constater 23 fois une montée du titre des anticorps de type 1, parmi lesquels on a :

- pas d'hétérotypie en 2,

- 8 cas d'hétérotypie en 3 dont 5 cas avec montée du titre.

Dans ces 8 cas, les AC neutralisants hétérotypiques sont également présents, à haut titre.

b)- Sur 10 malades chez lesquels un poliovirus de type 2 est isolé :

- dans 8 cas on obtient une montée du titre des AC homologues, parmi lesquels,

- dans 2 cas, on observe une réaction hétérologue en type 1 sans augmentation,

- dans 4 cas, en type 3 dont 2 cas avec montée.

c)- Sur 20 malades qui hébergent un poliovirus type 3 :

dans 13 cas, on constate une montée d'AC homologues, parmi lesquels:

chez 5 sujets on observe une réaction hétérologue en 1 dont 2 montées et,

chez 2 sujets en type 2 dont une avec montée des AC.

La Fix. du C' fournit donc 73 % de résultats positifs à ces auteurs qui considèrent que ces AG N sont spécifiques puisque ne donnant de réactions hétérotypiques que dans les cas où est démontrable un haut titre d'AC neutralisants dans le même type (différent de celui isolé du malade). Ces réactions hétérotypiques n'en sont pas moins décelées chez 21 sujets sur 60 soit près de 35 %.

III - CONFRONTATION ET CONCLUSION -

Nous avons représenté sur la photo 2, l'ensemble des résultats que nous avons obtenus à partir des 69 sujets qui hébergeaient un poliovirus et chez qui la Fix. du C' a été positive ou présomptive.

Ceux de N.J. SCHMIDT et E.H. LENNETTE sont réunis de la même façon sur la photo 4.

Une étude statistique avec détermination de la moyenne et des limites de confiance (application du test t de STUDENT), nous a permis de représenter ces deux groupes de résultats par des courbes (Photos 3 et 5).

A - Les AUTEURS CITES parviennent à des déductions que l'on peut résumer comme suit :

1°/- L'apparition des anticorps Fix. C' a lieu en général dans la première semaine après le début de la maladie. Elle peut cependant être retardée nettement mais dans des cas exceptionnels.

2°/- L'acquisition du titre maximum est obtenue dans 60 à 70 % des cas entre le 3ème et le 30ème jour; elle l'est dans la quasi totalité des cas avant le 90ème jour.

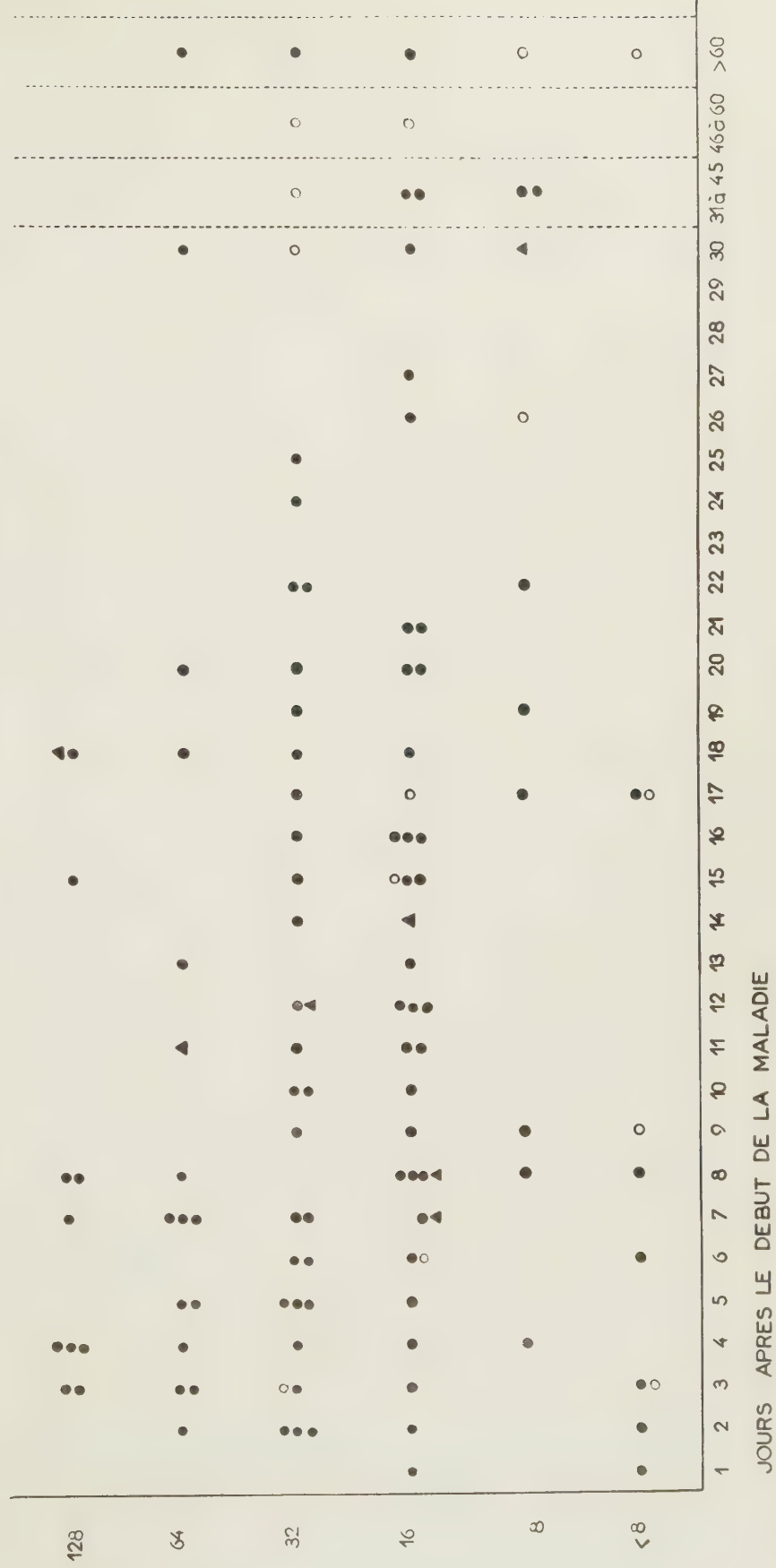
L'intensité de ce titre est très variable, jamais très élevée

REACTION DE FIXATION DU C' AU COURS ET AU DECOURS DE L'INFECTION POLIOMYELITIQUE

PHOTO 2

TYPE 1 ISOLE
TYPE 2 ISOLE
TYPE 3 ISOLE

TAUX DE L'ANTICORPS HOMOLOGUE



EVOLUTION DES ANTICORPS AU COURS DE L'INFECTION

LOG₁₀ AC FIX C⁻ POLIOMYELITIQUE RESULTATS DU LABORATOIRE D'HYGIENE

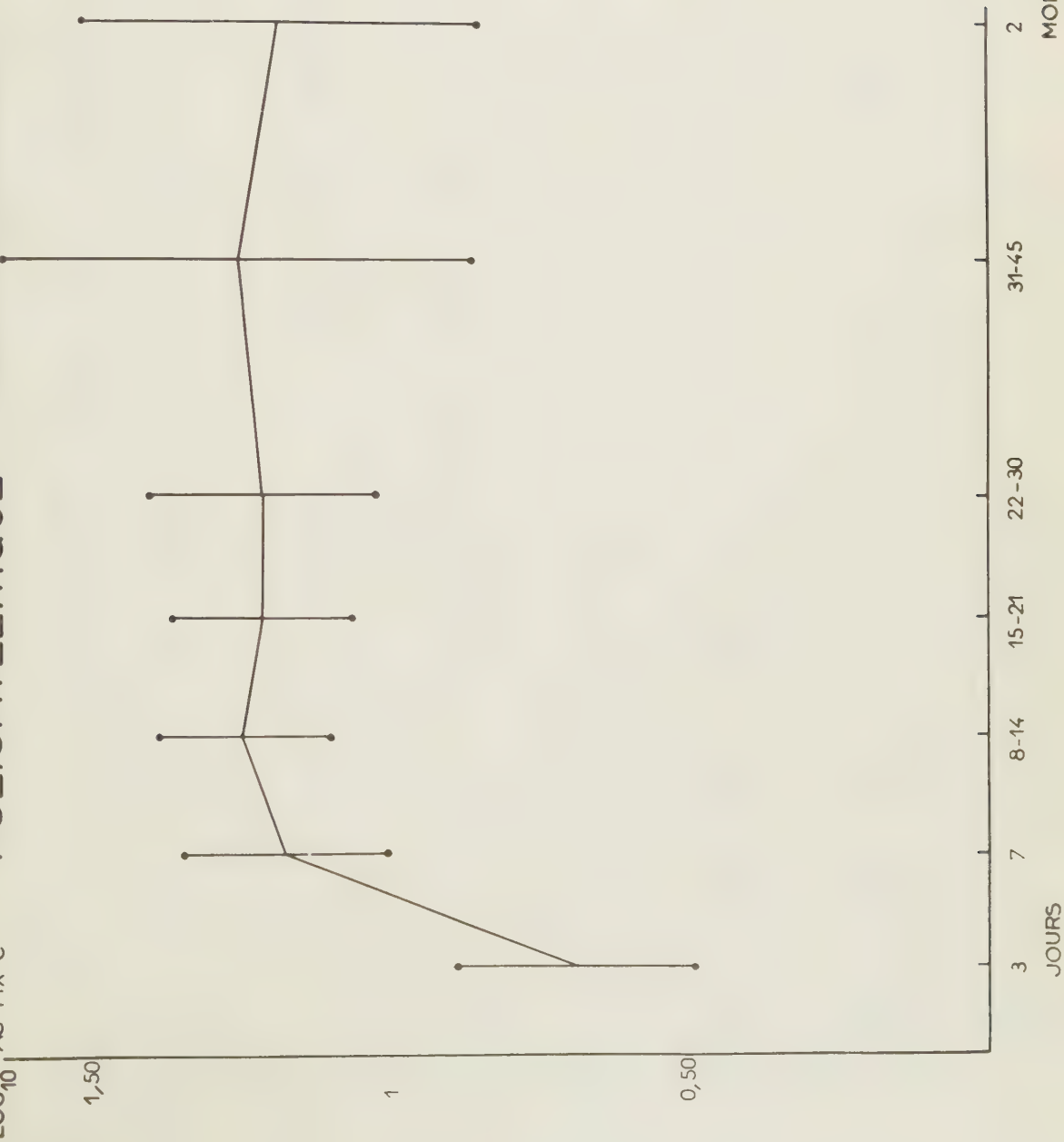


PHOTO 3

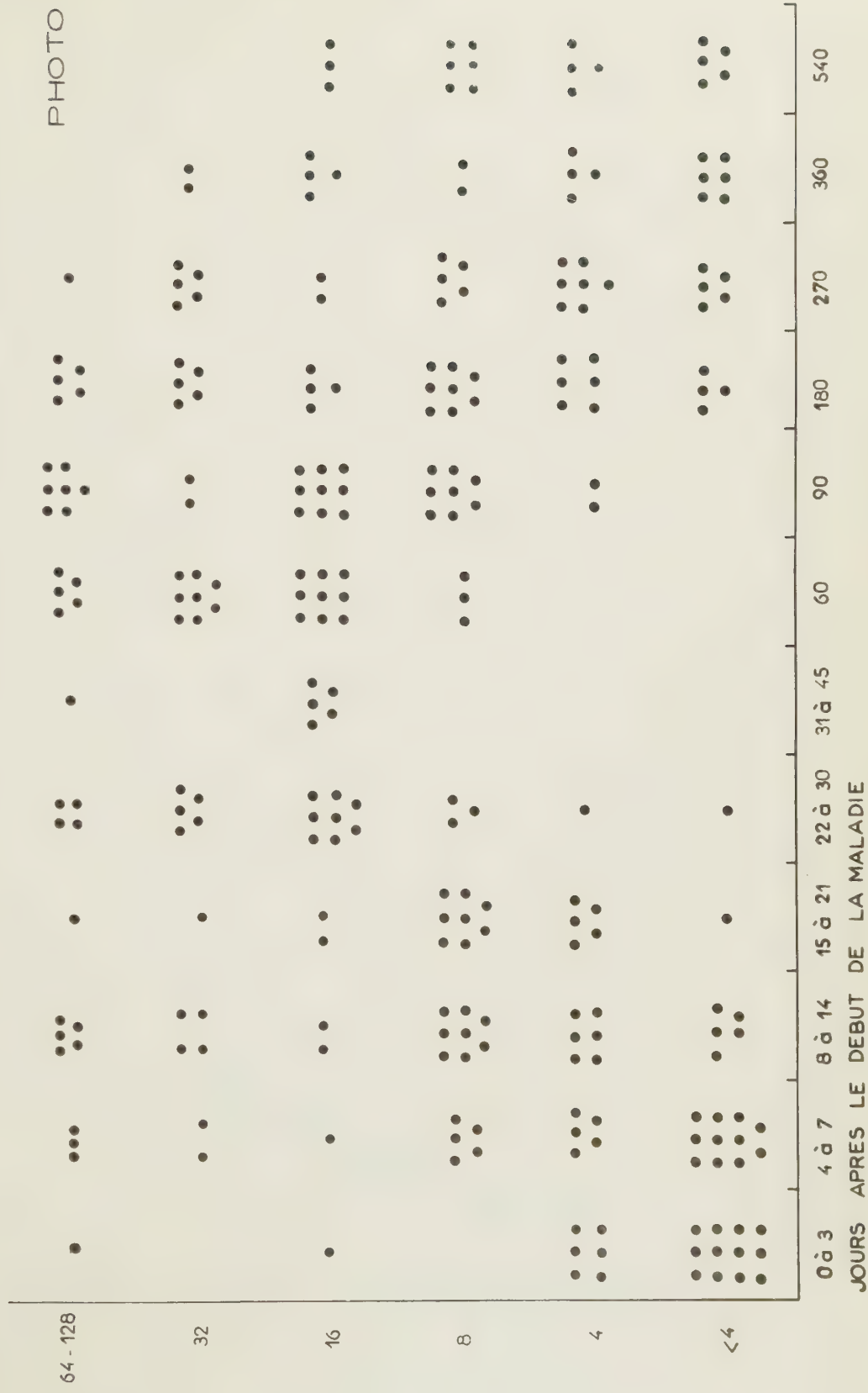
REACTION DE FIXATION DU C' AU COURS ET AU DECOURS DE L'INFECTION POLIOMYELITIQUE

43 PATIENTS - TYPE 1 ISOLE

[N.J. SCHMIDT et E.H. LENNETTE]

TITRE

PHOTO 4



EVOLUTION DES ANTICORPS AU COURS DE L'INFECTION POLIOMYELITIQUE

E.H. LENNETTE ET N.J. SCHMIDT

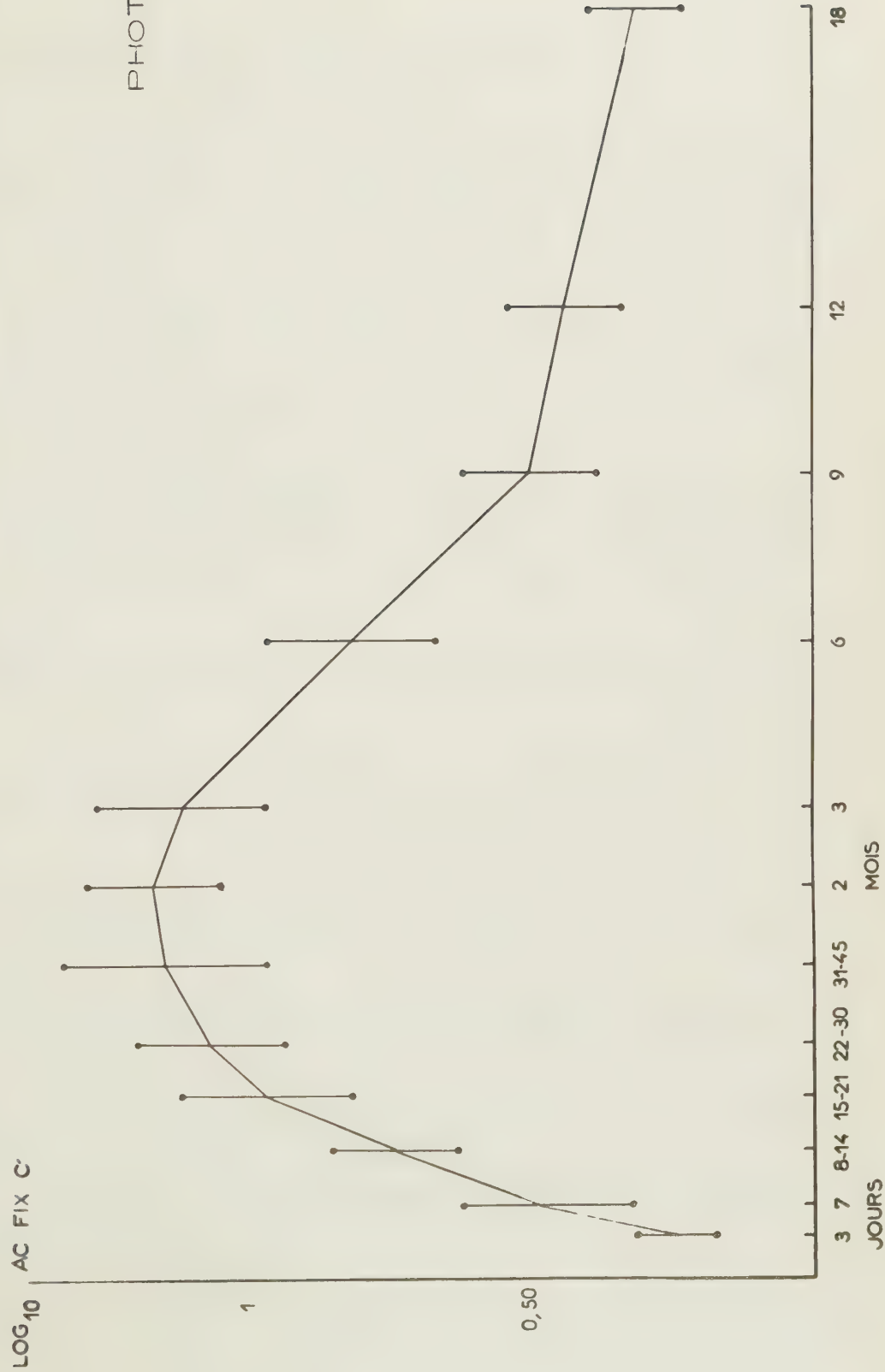


PHOTO 5

($\leq$ 128).

3°/- La persistance d'un titre ≥ 16 peut atteindre 2 ans, mais ne dépasse pas 6 mois dans au moins les 2/3 des cas.

4°/- La constatation d'une montée significative du titre est faite dans des pourcentages variant de 40 à 65 %. Notons qu'elle est bien plus fréquemment rencontrée qu'avec les AC neutralisants surtout après 30 jours.

5°/- Les réactions hétérotypiques sont trouvées en proportions nettement variables suivant les auteurs: 40 % chez SCHMIDT - HOPKEN, plus de 80 % chez MILLER - BAUMEISTER, 24 % chez SCHMIDT - LENNETTE. Le diagnostic de type serait donc possible dans 20 à 75 % des cas.

6°/- Les auteurs admettent qu'un diagnostic peut être posé dans 65 % des cas par SCHMIDT et LENNETTE, 73 % des cas par SCHMIDT - HOPKEN. Par contre MILLER et BAUMEISTER estiment que la Fix. du C' ne constitue pas un bon moyen de diagnostic.

Il faut remarquer que ces conclusions n'ont une valeur que dans la mesure où :

- a)- on utilise des AG FRAIS,
- b)- on dispose de prélèvements suffisants et bien choisis dans le temps,
- c)- Les CRITERES EXIGES POUR ADMETTRE LA POSITIVITE DE LA REACTION SONT D'UNE RIGUEUR SUFFISANTE.

B- Nos propres recherches peuvent être synthétisées de la façon suivante:

- 1°/- L'apparition des anticorps Fix. le C' : accord avec ces auteurs.
- 2°/- Acquisition du titre maximum : accord.
- 3°/- Persistance du titre 16 : n'a pu être étudiée sur un nombre suffisant de sérums très tardifs.
- 4°/- Montées significatives : accord.

5 et 6°/- Pour conclure sur ces deux points il nous faut résumer ici nos résultats. Nous ne ferons entrer en ligne de compte , par souci de rigueur que :

a)- Les 69 sujets pour lesquels la Fix. du C' est positive et chez lesquels on a obtenu l'isolement d'un poliovirus.

b)- Les P.A.A. typiques, seules, en ce qui concerne les patients qui ont un virus dans les selles, mais qui donnent une réponse négative à la Fix. du C'.

c)- Les P.A.A. typiques dans le groupe de malades chez lesquels aucun poliovirus n'est isolé.

Nous obtenons ainsi :

Fix. C' + et isolement +

- 27 sujets testés en type 1 seul : 14 réaction positives
13 présomptions.

- 42 sujets testés en types 1, 2 et 3 :

11 homotypiques dont 7 réactions positives
4 présomptions

31 hétérotypiques dont 9 réactions positives
23 présomptions.

Fix. C' - isolement +

- 15 P.A.A. typiques

Fix. C' + isolement -

- 10 P.A.A. typiques dont 3 réactions positives
7 présomptions.

Les 2 sujets testés dans les 3 types présentent des résultats hétérotypiques.

RESULTATS : si nous n'en appelons qu'aux chiffres nous obtenons :

- 33 sur 94 réponses positives soit $1/3$ environ
- 11 réponses homotypiques sur 44 soit 25 % donc 75 % de réponses hétérotypiques.

En réalité nous pensons que, si le pourcentage de réactions hétérotypiques est incontestablement élevé, le pourcentage des réactions que nous considérons comme positives est difficile à comparer avec les résultats des auteurs suscités pour plusieurs raisons :

1°/- Dans un nombre de cas non négligeable nous n'avons pu étudier des sérums prélevés dans des délais convenables par rapport au début de la maladie.

2°/- Nos critères de positivité sont sévères; en particulier le fait d'exiger un titre de 64 pour admettre la positivité (plus exactement une forte probabilité) a diminué nettement notre pourcentage global.

3°/- Lorsqu'elle n'apporte qu'une présomption, la Fix. du C' - si elle ne peut à elle seule assurer le diagnostic - reste un indice intéressant, qui étaiçra d'autres recherches.

*

*

*

- SPECIFICITE DE LA REACTION -

I - TRAVAUX PERSONNELS -

Nous avons étudié la spécificité de la réaction de Fix. du C' :

1°/- Dans des affections neurologiques, susceptibles de donner des tableaux cliniques pouvant évoquer une forme atypique ou abortive de poliomyélite, en particulier des encéphalites et des méningites.

Le tableau IV représente 10 de ces cas, pour lesquels ont été pratiquées des réactions de Fix. du C' avec des AG poliomyélitiques, ourlien et herpétique. Nous avons pu obtenir ainsi une forte présomption, d'étiologie herpétique pour le cas 136, ourlienne pour les autres, avec une réserve pour les sujets 141 et 145 qui montrent des titres insuffisants pour qu'on puisse affirmer une infection récente par le virus des oreillons.

On remarquera que la Fix. du C' avec les AG poliomyélitiques ne démontre pas la présence d'AC dans les sérums dilués au 1/8e sauf dans le cas 144 chez lequel un titre de 8 a été trouvé avec l'AG de type 1.

2°/- Dans des affections diverses, n'offrant pas de possibilités de confusion avec la poliomyélite pour le clinicien, mais susceptibles de comporter des étiologies virales ou bactériennes dont on ne peut exclure à priori qu'elles puissent déterminer des réactions immunitaires créatrices de fausses réactions positives.

Le tableau V propose 34 cas réunissant des syndromes variés. On constate que le titre maximum trouvé par la réaction de Fix. du C' aux AG poliomyélitiques ne démontre jamais de titre > 8 . Cinq sérums seulement possèdent un titre égal à 8, sans qu'il soit possible de déterminer s'il s'agit d'anticorps non spécifiques ou de phénomènes de rappel paraspécifiques ou encore d'anticorps résiduels d'une infection poliomyélitique inapparente ou fruste antérieure.

3°/- Chez de très jeunes enfants : avant de leur faire ingérer du vaccin vivant: aucun anticorps neutralisant l'un des 3 types de poliovirus n'a été

- TABLEAU IV -

N°	NOM - PRENOM	AGE	JOUR APRES DEBUT	DIAGNOSTIC CLINIQUE	REACTION de FIX. du C'				
					POLIO.			HERPES	OREILLONS
					1	2	3		
136	BAR... F.	8 ans	8	Méningite	<8	<8	<8	64	<8
			16		<8	<8	<8	16	<8
			22		<8	<8	<8	16	<8
137	GRA... R.	?	X ?	Diarrhée Signes méningés	<8	<8	<8	<8	64
			10 après		<8	<8	<8	<8	64
			28 après		<8	<8	<8	<8	64
138	GAU... G.	5 ans	6	Aréflexie rotulienne	<8	<8	<8	<8	<8
			16		<8	<8	<8	<8	256
139	WOL... O.	12 ans	1	Fièvre S. méningés	<8	<8	<8	<8	<8
			16		<8	<8	<8	<8	16
140	PER... G.	7 ans	12	Méningite	<8	<8	<8	<8	≥128
			21		<8	<8	<8	<8	≥128
141	BRU... J.	?	?	Méningite	<8	<8	<8	<8	32
					<8	<8	<8	<8	32
142	MON... H.	4 ans	?	Méningite	<8	<8	<8	<8	128
143	GEN... Y.	3 ans	?	P. faciale puis encé- phalite	<8	<8	<8	<8	<8
			9 j. après		<8	<8	<8	<8	64
144	DAL... J.P.	14 ans	11	Méningite	8	<8	<8	<8	64
145	HOL... R.	6 ans	28	Méningite	<8	<8	<8	<8	32

trouvé dans leur sérum.

- Dans ces 32 cas (voir tableau) qui permettent donc de penser qu'il s'agit de sujets n'ayant jamais été infectés auparavant, on peut constater qu'aucun titre d'anticorps ≥ 4 n'est décelé par la réaction de Fix. du C'.

4°/- Soulignons qu'il aurait été intéressant de pouvoir compléter cette évaluation de la spécificité de la réaction par l'étude d'un certain nombre de sérums provenant de malades atteints d'affection causées par d'autres entérovirus (coxsackie et ECHO) .

La rareté des demandes concernant ces diagnostics et la complexité de l'identification sérologique de ces agents ne nous ont pas permis de pratiquer cette recherche.

II - TRAVAUX PORTANT SUR L'ETUDE DE LA SPECIFICITE DE LA REACTION DE FIX. DU C' MISE EN OEUVRE AVEC DES AG POLIOMYELITIQUES -

Les travaux destinés à apprécier la spécificité de la réaction sont peu nombreux. Nous citerons les études portant sur les sérums de malades atteints :

A - D'affections neurologiques diverses :

1°/- N. SCHMIDT et E. LEINETTE (1956) dans une étude comparative de la valeur des antigènes poliomyélitiques chauffés et non chauffés étudient en parallèle :

- d'une part des sérums de poliomyélitiques et constatent de nouveau la bien plus grande fréquence des réponses hétérotypiques obtenues avec les préparations chauffées,

- d'autre part avec 10 paires de prélèvements sériques provenant de sujets atteints de méningo-encéphalite ourlienne (AG poliomyélitiques non chauffés) : si l'on constate chez ces 10 individus, une nette augmentation du titre des anticorps Fix. le C' avec un AG ourlien, tous montrent un titre inférieur à 8 avec les AG poliomyélitiques, sauf deux qui présentent un haut titre

N°	NOM - PRENOM	AGE	DIAGNOSTIC CLINIQUE	JOUR APRES DEBUT	FIXATION DU C'		
					1	2	3
146	AND... M.	?	Convulsions	5 12	<8 <8	<8 <8	<8 <8
147	ABD... A.	?	Pneumopathie	3 11	<8 <8	<8 <8	<8 <8
148	AIN... R.	33 ans	Fièvre	3 12	<8 <8	<8 <8	<8 <8
149	ANT... C.	8 ans	Céphalées	5 14	<8 <8	<8 <8	<8 <8
150	ANS... H.P.	3 ans	Convulsions	8 18	<8 <8	<8 (8)	<8 <8
151	ARC... G.	6 ans	Pneumopathie	9 19 50	<8 <8 <8	<8 <8 <8	<8 <8 <8
152	BOI... C.	6 ans	Angine	21 35	<8 <8	<8 <8	<8 <8
153	BAM... T.	1 an	Toxicose	22	<8	<8	<8
154	BER... G.	4 mois	Angine	25	<8	<8	<8
155	BOS... C.	9 ans	Asthénie	5	<8	<8	<8
156	BUR... J.M.	8 ans	Colite	12	(8)	<8	<8
157	BOI... N.	9 ans	Fièvre	5 15	<8 <8	<8 <8	<8 <8
158	BEN... T.	15 ans	Angine	15 50	<8 <8	<8 <8	<8 <8
159	BUS... G.	?	Myalgies	4 12	<8 <8	<8 <8	(8) <8
160	COL... J.	8 ans	Pneumopathie	3 9	<8 (8)	<8 <8	<8 <8
161	CHE... F.	?	Laryngite	5	<8	<8	<8
162	DEL... J.M.	2 ans	Laryngite	2 17	<8 <8	<8 <8	<8 <8
163	DAZ... S.	1 mois	Fièvre	8	<8	<8	<8

(Tableau V - suite)

N°	NOM - PRENOM	AGE	DIAGNOSTIC CLINIQUE	JOUR APRES DEBUT	FIXATION DU C'		
					1	2	3
164	GIR... P.	5 ans	Angine	5	<8	<8	<8
				11	<8	<8	<8
				20	<8	<8	<8
165	GAI... A.	19 ans	Pneumopathie	6	<8	<8	<8
				26	<8	<8	<8
166	GAU... G.	5 ans	Fièvre	8	<8	<8	<8
				18	<8	<8	<8
167	HAV... G.	27 ans	Fièvre	5	<8	<8	<8
				31	<8	<8	<8
168	HOU... T.	?	Myocardite	7	8	<8	<8
				22	<8	<8	<8
169	LAI... D.	2 ans	Céphalées	8	<8	<8	<8
				24	<8	<8	<8
170	LAB... E.	3 ans	Hypotonie	5	<8	<8	<8
				14	<8	<8	<8
171	LEB... ?	?	Diarrhée	13	<8	<8	<8
				27	<8	<8	<8
172	MAS... H.	8 ans	Coma	5	<8	<8	<8
				15	<8	<8	<8
173	POE... G.	13 ans	Céphalées	22	<8	<8	<8
174	PIA... J.	3 mois	VI° maladie	7	<8	<8	<8
175	RAM... T.	8 mois	Convulsions	5	<8	<8	<8
176	ROU... J.M.	3 mois	Angine	4	<8	<8	<8
				16	<8	<8	<8
177	SAL... J.	4 mois	Pneumopathie	2	<8	<8	<8
				13	<8	<8	<8
178	VIN... N.	11 ans	Diarrhée (Polio 3 ans avant)	7	<8	<8	<8
				20	<8	<8	<8
179	WIL... J.	7 mois	Angine	5	<8	<8	<8
				19	<8	<8	<8

stationnaire, l'un avec le type 1 l'autre avec le type 2, mais chez lesquels la présence d'anticorps neutralisants homologues à titre élevé prouve qu'il ne s'agit pas d'une réaction non spécifique, et permet de penser que ces deux malades ont fait récemment une infection poliomyélitique.

Les auteurs soulignent que l'AG chauffé paraît aussi spécifique de la poliomyélite que l'AG frais, et avancent que la "substance réactive" commune aux 3 types de poliovirus qui serait démasquée par l'action de la chaleur, (expliquant l'augmentation des réactions hétérotypiques) doit être propre aux seuls AG poliomyélitiques.

2°/- N. SCHMIDT et E. LENNETTE (1955) utilisant des AG non chauffés, testent un certain nombre de sujets atteints de maladies du système nerveux central :

a)- ENCEPHALITES OURLIENNES : 12 sujets chez lesquels la Fix. du C' avec un antigène ourlien permet de constater une augmentation significative du titre d'AC antiourliens. Sur ces 12 sujets, 9 n'ont pas d'anticorps décelables par la Fix. du C' avec des AG poliomyélitiques. Les 3 autres ont des anticorps antipoliovirus de type 1 respectivement aux titres de 4, 8 et 16. Les auteurs admettent que les titres bas et stationnaires n'ont aucune signification et que le titre de 16 peut correspondre aux AC résiduels d'une infection poliomyélitique antérieure.

b)- ENCEPHALITES EQUINES de l'OUEST (WEE) : 11 sujets qui présentent une Fix. du C' positive avec un AG de WEE - 2 seulement ont des AC antipoliomyélitiques de type 1; le premier au titre de 8 non significatif mais le second montre une augmentation significative du titre (4 - 32); les auteurs pensent qu'il s'agit de deux infections simultanées, l'une inapparente (poliomyélite), l'autre apparente (WEE).

c)- ENCEPHALITES de SAINT-LOUIS (SLE) : sur 10 sujets dont l'affection est signée là aussi, par une Fix. du C' positive avec un AG de SLE, la même réaction mais avec des AG poliomyélitiques montre 7 cas négatifs, 2 cas où sont décelés des taux limites (titres de 8) et 1 cas où une montée significative du titre suggère une infection double.

On constate donc dans ce travail que sur un total de 33 sujets atteints d'affections neurologiques non poliomyélitiques, on ne trouve des AC Fix. le C' poliomyélitiques à un titre significatif que dans 3 cas dont deux sont probablement explicables par des infections simultanées.

3°/- E. BERGER et M. VEST (1956) utilisant des AG chauffés et la technique de FULTON et DUMBELL, pratiquent des Fix. du C' avec un AG ourlien chez 41 sujets ayant des Fix. du C' positives avec des antigènes poliomyélitiques. Ils trouvent dans 6 cas un titre en AC ourlien > 80 , trois de ces cas correspondant à des méningites à liquide clair, 3 autres à des poliomyélites paralytiques. Ils posent eux aussi le problème de la double infection possible.

B - D'affections diverses non poliomyélitiques :

1°/- J. VIRAT (1961) utilisant des AG chauffés et non chauffés étudie 20 cas d'affections respiratoires d'étiologies diverses. Dans aucun cas elle ne met en évidence de titre significatif d'anticorps Fix. le C' poliomyélitiques.

Notons au passage que cet auteur ne constate pas dans ses recherches, de différences entre les résultats donnés par les AG chauffés d'une part, frais d'autre part.

2°/- E. BERGER et M. VEST (1956) trouvent avec des AG chauffés, dans 45 cas d'infections non poliomyélitiques, surtout respiratoires, un titre de 8 dans 13 % des cas, démontrant une fois de plus qu'un titre < 16 n'est pas spécifique

C - D'affections déterminées par les entérovirus non poliomyélitiques :

Les affections déterminées par les virus COXSACKIE et les virus ECHO constituent certainement la cause d'erreurs la plus fréquente. Plusieurs travaux ont étudié les incidences possibles de ces infections sur la réaction de Fix. du C' aux AG poliomyélitiques.

1°/- LENNETTE (E.H.) et Coll. (1961) utilisant comme toujours des AG non chauffés, étudient 579 sérums provenant de malades atteints d'affections à

virus COXSACKIE, ECHO et également à virus OURLIEN, HERPETIQUE, WEE, SLE et à virus entériques non identifiés. Tous ces prélèvements sont testés avec les 3 types antigéniques de poliovirus.

Sur ces 579 échantillons, 26 seulement montrent une augmentation significative du titre des AC poliomyélitiques, dans un type au moins, dont :

- 3 sont explicables par une vaccination récente,
- 1 fait une infection double certaine (augmentation importante du titre des AC neutralisants dans le même type),
- 9 font une infection double probable (sur la base d'un titre élevé des AC neutralisants dans le même type),
- 13 constituent le véritable groupe de réactions non spécifiques (hétérogroupe) soit moins de 3 % du total.

Sur ces 13 cas pour lesquels nous notons que les titres d'AC Fix. le C' trouvés sont bas (8 - 16) et ~~diminuent~~ plus vite que les "vrais" AC poliomyélitiques, les auteurs constatent que c'est surtout l'ECHO type 9 ~~et~~ donne les réactions hétérogroupe les plus nettes. En effet chez 6 malades sur 33, soit 18 %, on observe une augmentation du titre de 4 fois ou plus, sans qu'on puisse avancer la possibilité d'une double infection ou d'une vaccination récente.

Des constatations à priori comparables sont faites avec les virus ECHO types 4, 6, 10, mais les auteurs refusent de tirer des conclusions concernant ces types, le nombre des individus étudiés étant trop limité.

Il est remarquable que les 3 AG Fix. le C' poliomyélitiques sont testés au préalable avec des sérums de singe anti ECHO 9 et qu'ils donnent des résultats négatifs. La spécificité des AG n'étant donc pas en cause, les auteurs proposent deux explications :

. soit admettre que l'ECHO 9 - et peut-être d'autres types de virus ECHO - possèdent un constituant antigénique mineur commun avec les virus poliomyélitiques, de réactivité suffisante pour induire la formation d'AC réagissant avec les AG poliomyélitiques non chauffés.

. soit envisager que la montée d'AC soit déclenchée par un phénomène de rappel paraspécifique, chez les individus "sensibilisés" par une infection poliomyélitique antérieure, ce qui expliquerait qu'une partie seulement des sujets atteints d'affections provoquées par des ECHO 9, font une montée de leurs AC poliomyélitiques.

2°/- G. VON ZEIPPEL et A. SVEDMYR (1957) utilisant des AC chauffés, ont étudié un certain nombre de sujets atteints de méningites à liquide clair, pendant l'épidémie de Stockholm en 1954, provoquée en partie par le virus ECHO type 6. Chez 31 patients excréant de l'ECHO 6 dans les selles, ils constatent dans 15 cas, soit 50 %, une augmentation du titre d'anticorps contre 1, 2 ou 3 types de poliovirus. Notons que les titres maximums trouvés sont bas (≤ 8) dans la grande majorité des cas.

3°/- P. HALONEN - L. ROSEN - R. HUEBNER (1959), étudient un groupe de 26 patients, infectés par des virus ECHO 10, 16 ou 20 ou par des virus COXSACKIE B3. La plupart montre des montées significatives de leurs AC Fix. le C' homologues; aucun ne démontre une telle augmentation de leurs AC vis-à-vis des AG poliomyélitiques. Notons que les AG utilisés sont traités par le fluorocarbène et non inactivés. SCHMIDT et LENNETTE ont constaté eux aussi que le traitement des AG par le fluorocarbène ne semble pas nuire à leur spécificité.

4°/- A. SVEDMYR - B. MILEN - L. KJELLEN (1956) utilisant des AG chauffés étudient plusieurs centaines de prélèvements sériques, provenant de 3 lots de sujets classés cliniquement : le premier comporte des paralysies (402 cas) le second des formes atypiques ou des méningites (343 cas) le troisième des affections diverses (319 cas).

L'ensemble de ces 3 lots est divisé en deux périodes : l'une d'avril 1953 à avril 1954 (période d'épidémie), l'autre d'avril 1954 à décembre 1954.

Ils étudient alors :

- d'une part les selles à partir desquelles ils tentent d'isoler un virus. Lorsqu'ils obtiennent une souche virale, ils cherchent à la neutraliser par un pool d'antisérums poliomyélitiques et classent ainsi les diverses souches en virus poliomyélitiques ou non poliomyélitiques, ces derniers n'étant pas identifiés,

- d'autre part, pour chaque sujet des couples de sérums dont les prélèvements sont séparés par des intervalles de temps de 2 à 15 jours.

Ils constatent alors que, dans 30 % environ des paralysies et des méningites de la première période et 36 % des méningites de la seconde période, le virus isolé dans les selles n'est pas un poliovirus. Or dans l'ensemble des paralysies d'une part, des méningites d'autre part avec entérovirus non poliomyélitiques dans les selles, ils trouvent respectivement dans 24 % et 79 % des AC Fix. le C' du type 1 et dans 14 % et 37 % des AC Fix. le C' dans les 3 types (titre 8 maximum dans 50 % des cas) ce qui suggère évidemment des réponses hétérogènes.

Nous remarquerons que le titre 8 est sans valeur, que les auteurs ne parlent pas de montées significatives éventuelles, que les méthodes d'isolement employées n'étaient pas absolument sûres, comme les auteurs le reconnaissent, que les phénomènes d'interférences ou d'infections doubles devaient être fréquents à Stockholm, à cette époque où plusieurs épidémies sévissaient causées aussi bien par des poliovirus que par des virus ECHO, ce qui augmentait de surcroît les chances de trouver, chez les sujets de la seconde période en particulier, des AC résiduels d'une infection poliomyélitique antérieure.

5°/- JOHANSSON (1958) utilise un AG non chauffé mais concentré par évaporation à l'air chaud. Etudiant un nombre de cas malheureusement réduit, de sujets atteints d'infections à ECHO 6 et 9 ou à COXSACKIE A5, A9, B3, B4, l'auteur trouve dans 10 % des cas une montée significative du titre d'AC Fix. le C' avec des AG poliomyélitiques.

Mais comme le remarquent SCHMIDT et LENNETTE, le procédé de concentration utilisé pour la préparation de l'antigène peut diminuer sa spécificité. Cette publication ne donne pas de renseignements sur la possibilité d'infections doubles ou de vaccinations récentes.

6°/- HAMMON W.H. (1958) étudie particulièrement les affections à entérovirus pouvant donner à la fois des syndromes cliniques (atteintes du système nerveux central) et des réponses immunologiques comparables à ceux et celles fournis par les poliovirus.

Il procède ainsi :

a)- Isolement du virus et identification.

b)- Titrage des anticorps neutralisants dans un sérum précoce et un sérum tardif prélevés sur chaque malade, ce titrage étant pratiqué en utilisant comme antigène le virus isolé, ce qui permet d'affirmer que ce dernier est bien la cause de la maladie.

c)- Dans chacun de ces sérums, sont titrés les AC neutralisants et les AC Fix. le C' poliomyélitiques, ces derniers recherchés par une microméthode de type FULTON et DUMBELL avec des AG chauffés.

L'auteur constate alors que :

Sur 16 cas de paralysies ou de méningites non bactériennes, 5 montrent un titre de 16 ou une montée significative des AC Fix. le C' poliomyélitiques, chez des sujets chez lesquels furent isolés des ECHO 1, 4, 12, 16 et un COXSACKIE A9.

Il ne semble pas s'agir d'une double infection, les AC neutralisants poliomyélitiques homologues restant à un titre bas.

L'auteur suggère l'existence d'une partie antigénique commune à ces divers virus et estime que la distinction par les tests sérologiques risque d'être très difficile entre les poliovirus et certains virus ECHO et COXSACKIE donnant des syndromes cliniques semblables.

7°/- Un travail récent de MIETENS (C) - HUMMELER (K.) et HENLE (W.) (1964), étudie les phénomènes de rappel des AC Fix. le C' formés contre les entérovirus. Voulant faire la distinction entre les AC de rappel parasécifiques et l'éventuelle formation, après des infections répétées d'AC peu spécifiques pouvant réagir avec de nombreux AG fabriqués à partir d'entérovirus des diffé-

rents groupes (AC à "large spectre"), les auteurs renoncent à étudier les réactions humaines. Il est en effet presque toujours impossible de connaître chez l'homme, la nature, le nombre et le moment des infections à entérovirus passées, les formes inapparentes étant trop fréquentes.

Aussi choisissent-ils des lots de cobayes qui dans un premier temps reçoivent plusieurs injections intrapéritonéales de certains entérovirus (par exemple : 4 injections de poliovirus type 1). Dans un second temps, ces mêmes animaux sont inoculés par la même voie avec un certain nombre d'entérovirus, chaque injection d'un virus donné étant répartie dans le temps, de semaine en semaine. Entre chaque inoculation, les AC Fix. le C' apparus et résiduels sont dosés dans le sérum de chaque animal, les AG utilisés correspondant à chaque type d'entérovirus précédemment injecté aux cobayes. Ces batteries de réactions permettent évidemment d'observer et de suivre l'apparition, l'augmentation et la durée de chaque AC et de distinguer entre le RAPPEL et la formation éventuelle d'un AC contre un AG n'ayant jamais été administré au cobaye (AC à large spectre).

Ajoutons que les AC neutralisants sont recherchés également dans quelques cas.

Les résultats obtenus se résument comme suit:

a)- Des RAPPELS INTRAGROUPES sont fréquemment observés, c'est-à-dire par exemple qu'un animal préalablement immunisé par du poliovirus 1 et qui reçoit ultérieurement du poliovirus 3, voit remonter son titre d'anticorps antitype 1.

b)- Fait intéressant, ces RAPPELS d'AC intragroupes peuvent être détectés, alors que n'apparaissent pas, ou avec retard, les AC HOMOTYPIQUES. Ce qui veut dire qu'un cobaye ayant reçu d'abord du poliovirus type 1, puis après une période plus ou moins longue du type 2, peut présenter une augmentation ou tout au moins une réapparition de ses AC anti 1, alors que ses AC anti 2 peuvent rester indétectables pendant un temps long, ou même ne pas apparaître.

Notons qu'à l'opposé, il arrive que certains cobayes élaborent des AC homotypiques plus vite et à taux plus important, lorsqu'ils ont

fait une "expérience antérieure" avec un autre membre du même groupe, que s'ils subissent leur "primoinfection" par ce groupe.

Par exemple, un cobaye ayant déjà reçu du poliovirus 1 fait dans certains cas plus rapidement des AC antipoliovirus 2, lorsqu'il reçoit ce virus, que le cobaye qui reçoit du type 2 comme première injection.

c)- Des RAPPELS EXTRAGROUPES sont très rarement observés et sont toujours quantitativement limités. Par exemple une injection de COXSACKIE B1 a pu induire un rappel chez 2 cobayes sur 6 ayant reçu, 11 semaines auparavant, du poliovirus type 1. Le titre des AC de rappel antipoliovirus 1 n'était que de 8.

d)- Ces RAPPELS dans leur ensemble, lorsqu'ils sont observés pour les AC Fix. le C', ne le sont pas avec les AC NEUTRALISANTS.

e)- L'apparition d'AC " A LARGE SPECTRE" pouvant réagir avec un type de virus auquel l'animal n'a pas été exposé au préalable - est rare - Les auteurs ont pourtant observé des cobayes n'ayant reçu, dans le groupe des poliovirus que les types 1 et 3, qui élaborent des AC Fix. le C' réagissant avec un type 2.

Peut-on penser que l'on puisse extrapoler ces conclusions à la clinique humaine ? La fréquence des réactions de rappel hétérotypiques, la rareté de l'apparition des AC de "spécificité large" et des réactions hétérogroupe, la possibilité de se heurter, chez un individu ayant subi des infections multiples avec des virus du même groupe, à la non élaboration des AC homotypiques, existent-elles aussi chez l'homme ?

Le travail décrit ne comporte qu'un nombre limité de types d'entérovirus et les cobayes étudiés sont en lots réduits. De plus il est très malaisé de prétendre comparer les réactions observées chez un animal subissant des agressions virales artificielles et parentérales, avec celles créées par ces mêmes agents infectieux chez l'espèce humaine, naturellement sensible aux entérovirus qui lui sont transmis par ingestion . Des réserves sérieuses s'imposent à l'évidence.

III - CONFRONTATION et CONCLUSION -

Il apparaît que le chauffage des préparations antigéniques, risque d'augmenter non seulement les réactions hétérotypiques mais encore les résultats non spécifiques proprement dits, les conclusions proposées par les auteurs ayant utilisé de tels antigènes étant nettement plus défavorables que celles obtenues avec les préparations non chauffées.

Après avoir été amené une nouvelle fois à insister sur le fait que seuls les AG non modifiés par la chaleur permettent d'obtenir des résultats satisfaisants, et ayant constaté que la spécificité comme la sensibilité de la réaction sont bien meilleures ainsi, nous remarquerons que les travaux sur la spécificité de la réaction Fix. le C' avec des AG poliomyélitiques frais sont encore trop rares et fragmentaires pour que des conclusions nettes puissent en être tirées.

De plus, ces études seront toujours rendues difficiles par le nombre élevé d'infections inapparentes d'origine poliomyélitique, qui peuvent déterminer, peu de temps avant le ou les prélèvements de sérums, chez les individus soumis à l'enquête, l'apparition de titres d'AC parfois importants, dont des taux résiduels non négligeables sont encore détectables dans les mois suivants, alors qu'une affection actuelle d'autre origine sévit. Il est évident que la spécificité proprement dite de la réaction n'est pas en cause; l'interprétation des résultats n'en n'est pas moins rendue délicate.

S'ajoutent à cet argument, les complications provoquées par les infections doubles et par les vaccinations antipoliomyélitiques.

C'est donc en prévoyant que dans certains cas les résultats devront être discutés avec minutie, que nous pouvons cependant avancer quelques hypothèses :

1°/- Les infections à entérovirus^{non} poliomyélitiques constituent la cause d'achoppement la plus certaine, sans qu'il soit actuellement possible de dresser avec sécurité une liste des types de virus ECHO et COXSACKIE qui provoqueraient, de façon régulière ou non, des réactions hétérogroupes. Il apparaît comme possible qu'en réalité les résultats non spécifiques soient déterminés

suivant les cas par un ensemble de phénomènes immunologiques qui comporteraient soit des rappels d'AC poliomyélitiques préexistants, soit l'apparition d'AC à "large spectre" déterminés par l'existence d'un "tronc commun" antigénique.

2°/- Les infections neurologiques causées par d'autres agents viraux ne semblent pas déterminer, en règle, l'apparition de "fausses réactions", pas plus d'ailleurs que les affections dont les tableaux cliniques sont différents des formes typiques de poliomyélite.

3°/- La réaction est d'une remarquable spécificité chez les "primo-infectés" comme on pouvait le prévoir, mais la pratique limite malheureusement beaucoup le nombre de tels sujets pour lesquels le biologiste est amené à faire un diagnostic sérologique.

4°/- Il est démontré que pour obtenir une présomption correcte, il faut exiger comme titre significatif limite, celui de 16. Comme nous avons constaté précédemment que, de toutes façons, ce titre constituait le minimum permettant d'avancer la possibilité d'une infection poliomyélitique RECENTE, en l'absence d'une augmentation significative du titre, on constate que la LIMITE DE SPECIFICITE et la PERSISTANCE RELATIVE des AC FIX. le C. POLIOMYELITIQUES, se recoupent pour fixer le titre de 16, comme LIMITE DE PROBABILITE d'INFECTION ACTUELLE D'ORIGINE POLIOMYELITIQUE.

Les principaux travaux étrangers et nos recherches personnelles ont été un accord total sur les points 2, 3 et 4.

*

*

*

- ETUDE D'UNE VACCINATION PAR VACCIN -
VIVANT ATTENUÉ

A- ETUDE PERSONNELLE -

CHEZ DES ENFANTS DE MOINS DE TROIS ANS -

Cette étude a été faite chez les enfants d'une pouponnière abritant des sujets de moins de 3 ans, hypotrophiques ou convalescents de diverses affections. Cette vaccination fut pratiquée avec des souches SABIN transformées en virus vaccin atténué; ce vaccin vivant fut administré non pas en une fois à toute la collectivité, mais de façon hebdomadaire à de petits groupes d'entrants (4 à 5 chaque semaine) l'opération étant répartie sur une période de 14 mois, pour la simple raison que des incidents de transport ne nous permirent pas de disposer d'une quantité suffisante de vaccin pour procéder à une seule séance vaccinant l'ensemble des enfants.

Pour des raisons psychologiques d'une part, d'autre part pour tenter, en augmentant la circulation du virus vaccin, de limiter au maximum - en jouant sur le phénomène d'interférence - la dissémination éventuelle d'un virus sauvage, tous les enfants furent vaccinés, y compris ceux âgés de moins de 4 mois.

Ce vaccin VIVANT, TRIVALENT, préparé à partir de souches SABIN par les LABORATOIRES LEDERLEE fut administré en deux doses de 2 ml ingérées dans un peu d'eau sucrée stérile après un repas, la deuxième étant administrée 8 semaines après la première.

Les TECHNIQUES utilisées pour les réactions de Fix. du C' et de NEUTRALISATION sont celles déjà décrites au chapitre "Matériel - Méthodes". Les résultats obtenus par les réactions de Fix. du C'* sont collectés sur les tableaux VI (Enfants de 6 mois et plus), VII (de 4 à 6 mois), VIII (moins de 4 mois), IX ("triples négatifs").

Deux prélèvements de sang sont pratiqués chez chaque enfant
l'un le matin de la première prise de vaccin
le second , 4 semaines après la 2ème ingestion (donc 12 semaines parès la première)

* et de neutralisation

- TABLEAU VI -

ENFANTS DE PLUS DE 6 MOIS (36 SUJETS)

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
HER.. H. 1	9	0	0*	0	4	≥256	≥16	BEL.. F. 19	6	0	0	0	0	4	0
		0	0	64	4	≥256	4			64	8	≥256	16	≥256	32
LAN.. J.P 2	7	4	0	0	0	0	0	BON.. D. 20	9	0	0	64	0	16	0
		4	0	64	0	32	0			8	0	≥256	16	≥256	8
SAN.. H. 3	15	128	0	≥256	4	4	0	BRI.. D. 21	7	0	0	8	0	0	0
		≥256	0	≥256	16	≥256	32			0	0	128	0	64	8
LEB.. S. 4	10	0	0	0	0	64	8	DOU.. S. 22	7	0	0	≥256	0	0	0
		0	0	128	8	≥256	8			0	0	64	0	0	0
DIP.. A. 5	11	0	0	0	0	4	4	CAR.. A. 23	6	4	0	0	0	0	0
		128	0	≥256	8	256	0			0	0	128	0	128	0
CON.. F. 6	7	4	0	8	0	0	0	CHE.. M. 24	6	≥256	0	16	0	0	0
		16	0	≥256	32	128	64			≥256	16	≥256	0	≥256	64
BRE.. P. 7	12	0	0	16	0	64	0	ZER.. Z. 25	13	0	0	0	0	4	0
		128	0	≥256	16	≥256	8			0	0	0	0	32	0
DJE.. J. 8	10	0	0	0	0	8	0	BEK.. A. 26	11	0	0	0	0	64	8
		0	0	≥256	8	≥256	32			≥256	64	≥256	16	≥256	8
MOU.. P. 9	8	0	0	4	0	16	0	BRA.. V. 27	6	0	0	0	0	32	0
		16	4	≥256	32	128	16			0	0	0	0	32	0
HES.. K. 10	6	0	0	8	0	8	0	BOU.. G. 28	6	4	0	16	0	0	0
		0	0	128	4	32	4			0	0	256	16	64	8
BEN.. Y. 11	7	8	0	64	0	64	0	ESC.. C. 29	6	0	0	8	0	0	0
		8	0	≥256	32	≥256	64			0	0	64	8	128	16
BER.. C. 12	9	0	0	0	0	4	0	BEC.. A. 30	6	0	4	0	8	16	8
		32	0	32	4	32	8			64	0	256	0	≥256	0
RTB.. P. 13	7	8	0	32	0	4	0	RAJ.. M.T.31	6	8	0	0	0	0	0
		8	0	≥256	4	128	4			≥256	4	128	8	128	8
BEL.. H. 14	12	≥256	16	8	4	4	4	SOL.. D. 32	7	32	0	≥256	16	0	0
		128	4	128	0	32	0			16	0	≥256	8	0	0

* Pour les AC Fix. le C' et Neut. bien vouloir lire 0 = 4

(Tableau VI - suite)

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
HAM.. H. 15	12	0	0	0	0	≥256	0	TAT.. S. 33	9	16	0	0	0	0	0
		16	0	64	0	≥256	8			64	0	256	8	128	8
DUP.. C. 16	12	0	0	0	0	128	0	SOU.. S. 34	7	0	0	0	0	≥256	8
		0	0	≥256	32	128	4			0	0	32	0	64	0
FUR.. D. 17	8	0	0	0	0	32	0	DRA.. N. 35	7	0	0	0	0	4	16
		128	8	256	16	≥256	16			256	4	≥256	16	64	32
ANT.. R. 18	12	0	0	0	0	8	0	NAM.. N. 36	20	0	0	4	0	128	0
		32	0	64	0	≥256	4			8	0	≥256	32	≥256	4

- TABLEAU VII -

ENFANTS DE 4 à 6 MOIS (19 SUJETS)

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
RUS.. G.	4	4 128	0 4	4 256	0 8	32 32	0 8	SOJ.. T.	4	0 0	0 0	4 16	0 0	16 64	0 8
RUS.. N.	4	8 128	0 8	4 256	0 8	8 128	0 16	BER.. S.	4	8 16	0 0	32 256	0 32	0 8	0 16
BEN.. D.	5	0 8	0 0	8 128	0 4	0 64	0 8	GRO.. N.	5	0 4	0 0	4 256	0 4	0 4	0 4
DUR.. N.	4	8 256	0 16	4 256	0 8	0 64	0 64	VRO.. B.	4	4 16	0 0	256 256	0 32	0 128	0 64
AVE.. A.	5	0 256	0 8	0 256	0 4	4 64	0 8								
THE.. S.	4	4 16	0 0	0 128	0 4	8 128	0 8								
ANT.. Y.	5	4 128	0 16	16 256	0 16	8 64	0 16								
BRE.. J.P.	4	4 4	0 0	8 64	0 0	16 32	0 0								
GUE.. H.	4	8 64	0 4	16 256	0 0	16 128	0 0								
DAU.. D.	5	4 16	0 0	4 128	0 32	8 256	0 64								
BLA.. C.	4	0 0	0 0	8 256	0 0	8 16	0 0								
MAN.. M.	5	0 128	0 4	8 256	0 16	0 64	0 32								
CHA.. D.	5	16 8	0 0	0 128	0 8	4 256	0 16								
PER.. M.L.	4	0 0	0 0	0 256	0 16	32 4	8 8								
VAN.. A.	4	4 4	0 0	0 8	0 0	16 4	0 0								

- TABLEAU VIII -

ENFANTS DE MOINS DE 4 MOIS (54 SUJETS)

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
BER.. O.	3	32 8	0 0	8 0	0 0	8 0	0 0	BEL.. F.	1	4 0	0 0	16 32	0 16	16 32	0 8
KAD.. N.	3	8 128	0 0	0 16	0 0	0 32	0 8	FUC.. D.	2	0 0	0 0	8 128	0 0	32 64	0 0
INUL.. A.	3	16 4	0 0	8 128	0 0	4 64	0 4	BIC.. P.	1	32 8	0 0	4 ≥256	0 16	32 64	0 4
LEV.. M.	2	4 0	0 0	4 128	0 0	0 4	0 0	BIC.. P.	1	8 4	0 0	8 128	0 0	16 128	0 0
RON.. L.	2	32 8	0 0	256 ≥256	0 8	32 16	0 0	SEB.. D.	1	32 4	0 0	0 64	0 32	4 0	4 0
DEH.. B.	2	0 0	0 0	0 128	0 4	4 0	0 0	GAR.. N.	2	8 0	0 0	0 128	0 16	0 4	0 0
EYR.. C.	1	16 0	0 0	8 16	0 4	4 32	0 0	ROM.. F.	2	8 ≥256	0 16	16 ≥256	0 16	0 64	0 16
RAB.. N.	3	8 32	0 16	8 ≥256	0 32	4 256	0 32	TIN.. C.	1	32 0	0 0	16 0	0 0	32 4	0 0
MAL.. P.	1	128 16	0 0	128 64	8 0	4 32	8 0	VAL.. L.	1	8 0	0 0	0 32	0 0	8 64	0 0
MER.. L.	1	16 16	0 0	64 64	0 4	32 32	0 0	BAA.. Y.	1	16 16	0 0	0 ≥256	0 32	128 ≥256	0 32
MER.. H.	1	16 16	0 0	64 64	0 0	32 8	0 0	BON.. E.	2	0 0	0 0	0 16	0 0	128 ≥256	0 0
RIC.. A.	2	16 0	0 0	32 32	0 0	8 64	0 4	JAY.. M.C.	3	16 0	0 0	32 32	0 0	≥256 ≥256	0 4
BOIS.. A.	3	0 0	0 0	8 32	0 8	0 0	0 0	RUS.. A.	1	0 0	0 0	0 32	0 8	128 ≥256	0 32
LIC.. O.	2	16 8	0 0	64 ≥256	0 8	32 32	0 0	LAF.. M.	2	4 0	0 0	16 128	0 0	0 64	0 8
MON.. G.	2	4 4	0 0	0 ≥256	0 8	0 0	0 0	GHA.. H.	1	0 0	0 0	0 ≥256	0 8	64 64	0 16

(Tableau VIII - Suite)

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
BOS.. P.	1	64 8	0 0	≥256 32	0 0	8 16	0 0	BOY.. A.	1	128 32	0 0	32 ≥256	0 8	0 64	0 16
RIG.. M.	1	0 8	0 0	0 ≥256	0 32	4 64	0 64	LAB.. M.J.	1	8 0	0 0	128 64	0 0	16 64	0 4
BEA.. G.	1	16 0	0 0	128 0	0 16	16 16	0 8	LAB.. A. M.	2	4 0	0 16	4 32	0 32	8 64	0 32
MAN.. J.L.	2	4 0	0 0	4 0	0 0	8 4	0 0	BOU.. F.	3	0 0	0 0	32 16	4 0	16 0	0 0
CHA.. P.	2	4 0	0 0	4 16	0 0	32 64	0 0	NOU.. F.	3	8 4	0 0	32 ≥256	0 16	16 64	0 16
JEB.. A.	1	128 16	0 0	64 128	0 0	8 ≥256	0 0	SIL.. Y.	1	16 4	0 0	8 256	0 4	8 64	0 4
LEM.. P.	2	8 8	0 0	64 16	0 0	32 32	0 4	DUP.. N.	1	0 0	0 0	128 32	0 0	0 8	0 0
CSO.. I.	3	16 4	0 0	128 32	0 0	4 0	0 0	MOK.. D.	1	32 4	0 0	32 16	8 0	16 16	16 0
FEU.. R.	3	16 4	0 0	32 64	0 32	0 16	0 16	MOK.. R.	1	32 4	0 0	64 4	0 0	16 0	8 0
MOR.. P.	2	0 0	0 0	8 ≥256	0 0	0 0	0 0								
RAB.. M.	3	0 64	0 0	≥256 ≥256	8 64	0 8	0 8								
MEL.. B.	2	32 0	0 0	16 16	0 0	0 16	0 0								
MEL.. N.	2	16 4	0 0	64 16	0 0	0 128	0 4								
PET.. S.	2	4 0	0 0	16 64	0 0	0 0	0 0								
BOU.. P.	3	4 ≥256	0 16	0 ≥256	0 8	0 ≥256	0 16								

- TABLEAU IX -

ENFANTS SANS AC NEUTR. AVANT VACCINATION

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
BEL.. B.	8	0 ≥256	0 8	0 ≥256	0 32	0 ≥256	0 32	BAK.. M.	7	0 0	0 0	0 32	0 8	0 0	0 0
CAI.. Ph.	8	0 128	0 8	0 ≥256	0 ≥32	0 128	0 64	PEI.. Y.	12	0 0	0 0	0 256	0 32	0 128	0 32
CLE.. C.	12	0 0	0 0	0 128	0 4	0 128	0 4	RAY.. C.	6	0 32	0 0	0 ≥256	0 16	0 128	0 16
BRU.. R.	12	0 8	0 0	0 ≥256	0 32	0 32	0 32	BOU.. S.	11	0 ≥256	0 32	0 ≥256	0 32	0 64	0 32
RAC.. G.	9	0 4	0 0	0 ≥256	0 8	0 128	0 16	LAV.. P.	7	0 ≥256	0 16	0 128	0 4	0 32	0 4
GEN.. B.	17	0 0	0 0	0 64	0 16	0 0	0 4	ABB.. C.	10	0 16	0 0	0 128	0 16	0 ≥256	0 8
MIC.. P.	9	0 ≥256	0 64	0 128	0 8	0 ≥256	0 16								
VIO.. G.	13	0 16	0 0	0 64	0 8	0 32	0 16	GEL.. F.	5	0 0	0 0	0 ≥256	0 8	0 0	0 0
BAI.. D.	6	0 32	0 4	0 128	0 32	0 0	0 32	JOU.. B.	4	0 0	0 0	0 ≥256	0 0	0 32	0 4
THE.. G.	19	0 0	0 0	0 ≥256	0 16	0 128	0 4	HAN.. A.	4	0 0	0 0	0 16	0 0	0 32	0 8
REZ.. M.	15	0 32	0 0	0 64	0 8	0 64	0 16	MON.. Y.	5	0 16	0 0	0 128	0 4	0 64	0 4
REY.. D.	12	0 0	0 0	0 ≥256	0 8	0 32	0 4								
REY.. JP.	7	0 16	0 0	0 128	0 0	0 128	0 8	FRE.. M.	2	0 4	0 0	0 ≥256	0 4	0 ≥256	0 32
NAR.. G.	10	0 0	0 0	0 16	0 0	0 0	0 0	MAR.. M.	2	0 4	0 0	0 ≥256	0 32	0 128	0 32
SOA.. M.	14	0 ≥256	0 16	0 128	0 8	0 32	0 16	MOR.. M.	3	0 8	0 0	0 32	0 32	0 32	0 16

(Tableau IX - Suite)

NOM	AGE en MOIS	1		2		3		NOM	AGE en MOIS	1		2		3	
		N	FC'	N	FC'	N	FC'			N	FC'	N	FC'	N	FC'
AMO.. A.	6	0 64	0 4	0 256	0 16	0 16	0 8	FER.. F.	1	0 8	0 8	0 256	0 64	0 256	0 64
BEN.. D.	12	0 16	0 32	0 256	0 32	0 32	0 32								
SMA.. N.	6	0 8	0 0	0 8	0 0	0 0	0 0								

Cette enquête porte sur un ensemble de 141 enfants que nous avons groupés comme suit :

32 sujets n'ayant pas, avant vaccin., un titre d'AC NEUTR. ≥ 4 pour
aucun des 3 types.

36 sujets âgés de 6 mois ou plus	)	{	ayant au moins dans un type
19 sujets âgés de 4 à 6 mois			un titre d'AC neutralisants
<u>54</u> sujets âgés de moins de 4 mois			≥ 4 (109 sujets)

141 enfants

Elle portera essentiellement sur une étude critique de l'apport possible de la réaction de Fix. du C' dans un essai d'appréciation de l'efficacité de la vaccination, en tentant de dégager l'intérêt des AC qu'elle met en évidence, par rapport aux AC neutralisants.

I - COMPARAISON EN POURCENTAGE DES MONTEES SIGNIFICATIVES DES AC NEUTRALISANTS ET DES AC FIX. LE C'

Nous rappellerons qu'il est convenu d'appeler :

- TITRE d'un sérum, l'inverse de la plus grande dilution à laquelle ce sérum donne encore, soit une neutralisation de l'effet cytopathogène, soit une Fix. du C' positive. Ex. : Réaction positive avec le sérum au 1/64e $\longrightarrow$ titre 64.

- MONTEE SIGNIFICATIVE (M.S.) d'un titre, lorsque le taux d'AC du sérum aura au moins quadruplé, c'est-à-dire lorsque le nouveau titre après vaccination, s'est montré au moins 4 fois plus élevé. C'est en effet le minimum que nous exigeons pour admettre une réponse positive.

Le tableau X montre que les AC NEUTRALISANTS ont fait une M.S. :

a)- chez les enfants du premier groupe, possédant un titre de 4, au moins dans un type :

- chez les enfants de moins de 4 mois : dans un pourcentage médiocre pour le type 1 (11 %), moyen pour les types 2 et 3 (53,7 % et 42,7 %).

- chez les enfants de plus de 4 mois : dans un pourcentage moyen pour le type 1, bon pour les types 2 et 3.

b)- Chez les enfants du deuxième groupe, n'ayant pas avant vaccination pour aucun des 3 types un titre d'AC neutralisants ≥ 4 (et que nous appellerons désormais : TRIPLES NEGATIFS) :

- dans un pourcentage non appréciable chez les enfants de moins de 6 mois, leur nombre étant trop restreint,

- dans un pourcentage moyen (66 %) pour le type 1, et bon pour les types 2 et 3 (100 % et 79 %) chez les enfants de plus de 6 mois.

Les AC FIXANT le C'

ont fait une M.S. dans des pourcentages régulièrement comparables mais moindre dans chaque groupe (Photo 6)

Le tableau XI donne les pourcentages de cas, où le succès de la vaccination est signé par une montée significative simultanée des AC Fix. le C' et des AC neutralisants.

On voit que ce pourcentage n'est pas négligeable et atteint en particulier, pour les types 2 et 3, d'une part pour les triples négatifs de plus de 6 mois : 78, 3 % et 62, 5 %, d'autre part pour le premier groupe de plus de 6 mois : 50 % et 50 %.

II - TITRES ATTEINTS PAR LES "TRIPLES NEGATIFS" APRES VACCINATION (AC Fix. C')

On peut constater :

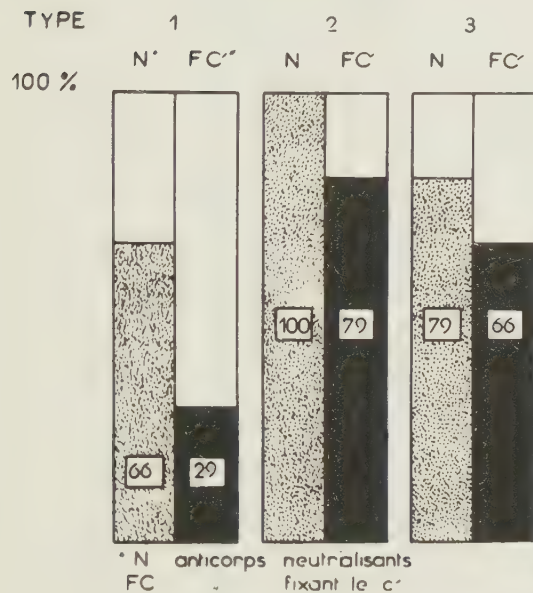
a)- que ces 32 enfants n'ont, quel que soit leur âge, jamais d'AC Fix. le C' dans les sérums prélevés avant vaccination. Ce fait démontre d'une part l'intérêt que présente la recherche de tels AC qui ne semblent pas présenter l'inconvénient imputable au passage éventuel d'AC maternels, fréquent avec les AC neutralisants, d'autre part qu'il est possible de porter à l'actif de la réaction cette preuve de bonne spécificité (voir chapitre spécificité).

% D'ENFANTS dont le TITRE A AUGMENTE d'au moins 4 FOIS

APRES INGESTION DE VACCIN VIVANT

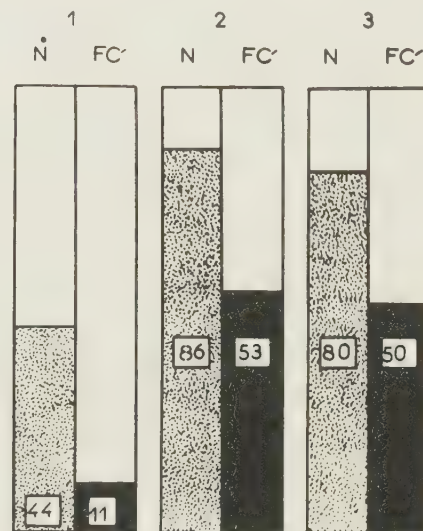
24 ENFANTS "TRIPLES NEGATIFS"

Titres d'anticorps neut < 4 avant vaccination
dans les 3 types



36 ENFANTS AYANT UN TITRE D ANTICORPS NEUT.

≥ 4 au moins dans 1 type avant vaccination



TITRE d'anticorps FIXANT le C' des 24 "TRIPLES NEGATIFS"

apres VACCINATION

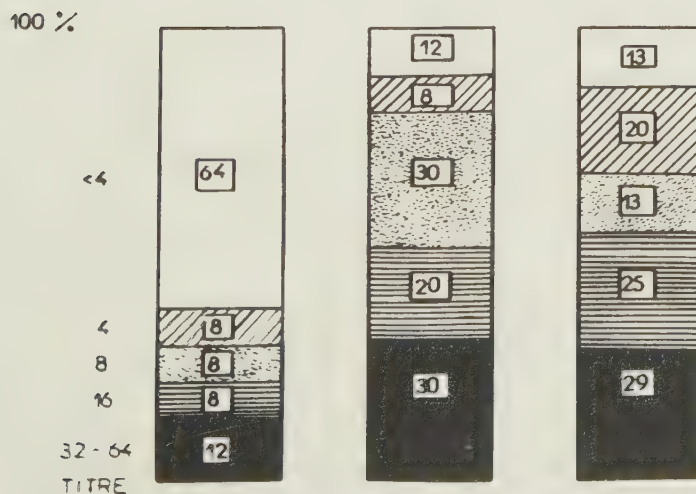


PHOTO 6

T A B L E A U X

ENFANTS qui AVANT VACCIN	A G E en MOIS	NOMBRE d'enfants testés	T Y P E 1			T Y P E 2			T Y P E 3					
			NEUTRAL.		Fix. le C'	NEUTRAL.		Fix. le C'	NEUTRAL.		Fix. le C'			
			Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%		
AVAIENT UN TITRE d'AC NEUTRALISANTS > 4 AU MOINS DANS UN TYPE	< 4	54	6	11 %	4	7,4 %	29	53,7 %	21	39 %	23	42,5 %	15	27,7 %
	4 < Age < 6	19	11	57,8 %	4	21,1 %	19	100 %	10	52,6 %	13	68,4 %	13	68,4 %
	> 6	36	16	44,4 %	4	11 %	31	86 %	19	52,7 %	29	80 %	18	50 %
	Moyenne	109	53	30,3 %	12	11 %	79	72 %	50	46 %	65	59 %	46	42 %
	< 4	4	2	50 %	1	25 %	4	100 %	3	75 %	4	100 %	4	100 %
AVAIENT POUR LES 3 TYPES UN TITRE d'AC NEUTRALISANTS < 4	4 < Age < 6	4	1	25 %	0	0 %	4	100 %	1	25 %	3	75 %	1	25 %
	> 6	24	16	66 %	7	29 %	24	100 %	19	79 %	19	79 %	16	66 %
	Moyenne	32	19	59 %	8	25 %	32	100 %	23	72 %	26	81 %	21	65 %
	NOMBRE et POURCEN- TAGE GLOBAUX	141	52	36,8 %	20	14 %	111	78 %	73	51 %	91	64,5 %	67	47,5 %

ENFANTS DONT LE TITRE D'AC A AUGMENTE DE 4 FOIS AU MOINS APRES VACCINATION

T A B L E A U X I

	A G E en MOIS	NOMBRE ENFANTS TESTES	C O R R E L A T I O N					
			1		2		3	
			Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%
AYANT AVANT VACCIN AU MOINS UN AC NEUTR. TITRE ≥ 4	< 4	54	3	5,5%	16	29 %	10	18,5%
	4 à 6	19	4	21 %	10	52,6%	12	63 %
	> 6	36	3	8,3%	18	50 %	18	50 %
"TRIPLES NEGATIFS"	< 4	4	1	25 %	3	75 %	4	100 %
	4 à 6	4	0	0 %	1	25 %	1	25 %
	> 6	24	7	29,2%	19	78,3%	15	62,5%
NOMBRE ET % GLOBAUX		<u>141</u>	<u>18</u>	<u>12,7%</u>	<u>67</u>	<u>47,5%</u>	<u>60</u>	<u>42,5%</u>

Enfants qui ont augmenté AU MOINS à la fois LEURS AC (NEUTRALISANTS
) (FIXANT C')

b)- que dans le groupe de 24 enfants âgés de plus de 6 mois (Tableau XII et photo 6)

29 %	font une M.S. dont 20 % avec un titre ≥ 16 en type 1
79 %	- - - 50 % - - - 2
66 %	- - - 54 % - - - 3

III- ESSAI D'INTERPRETATION -

Les réponses immunitaires des enfants de moins de 4 mois, et dans une mesure moindre, de moins de 6 mois, étant capricieuses et irrégulières pour de nombreuses raisons (anticorps maternels; passage de ces anticorps dans le méconium, gênant la multiplication du virus; difficultés intrinsèques à s'immuniser)

- TABLEAU XII -

ENFANTS "TRIPLES NEGATIFS"

A G E en MOIS	< 4 MOIS			de 4 à 6 MOIS			> 6 MOIS		
TITRE APRES VACCIN ↓	T Y P E S			T Y P E S			T Y P E S		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
≥ 64		1	1				1		1
32		2	2				2	7	6
16			1				2	5	6
8	1				1	1	2	7	3
4		1			1	2	2	2	5
< 4	3			4	2	1	15	3	3
TOTAL SUJETS	<u>4</u>			<u>4</u>			<u>24</u>		

nous limiterons cette étude critique aux sujets âgés de 6 mois et plus

A - Enfants dits TRIPLES NEGATIFS : parmi ces 24 sujets et dans le but de juger de la dissociation éventuelle des réponses données par les AC neutralisants d'une part et des AC Fix. le C' d'autre part, nous distinguerons :

(a) ceux qui ont montré une M.S. à la fois en AC neutr. et en AC Fix. le C',

(b) ceux qui n'ont montré aucune M.S. ni en AC neutr. ni en AC Fix. le C' (échec du vaccin),

(c) ceux qui ont fait une M.S. en AC neutr. et pas en AC Fix. le C',

(d) ceux qui ont fait une M.S. en AC Fix. le C' et pas en AC neutralisants.

	Type 1	Type 2	Type 3
(a)	7	19	15
(b)	8		4
CORRELATIONS	<u>15</u>	<u>19</u>	<u>19</u>
(c)	9	5	4
(d)			1
DISSOCIATIONS	<u>9</u>	<u>5</u>	<u>5</u>
T O T A L	24	24	24

ETUDE des DISSOCIATIONS :

1°/- En ce qui concerne le type 1, nous sommes en présence de 9/24 cas dissociés. Nous pouvons remarquer :

- que la réponse immunitaire au type 1 du vaccin, confirmant la réponse globale de tous les enfants, a été mauvaise. Or, sur les 9 cas où le taux d'AC Fix. le C' reste en dessous du seuil détectable, 5 des sujets n'ont acquis des AC neutralisants qu'à un taux ≤ 16 .

- que dans 2/4 cas où le titre en AC neutralisants est > 16 , le titre d'AC Fix. le C' a augmenté, mais n'a que doublé seulement.

2°/- En ce qui concerne le type 2 : sur 5/24 cas de dissociation :

- dans 2 cas, les titres d'AC neutralisants acquis sont faibles (≤ 16),

- dans 2 cas, le titre d'AC Fix. le C' a augmenté, mais seulement doublé.

3°/- En ce qui concerne le type 3 :

- sans les 4 cas de dissociation (c); les AC Fix. le C' ont augmenté mais seulement doublé,

- le cas unique (d) peut sans doute être rapporté à une réponse hétérotypique.

Nous estimons que, si la Fix. du C' paraît un peu moins sensible, elle semble signer, beaucoup mieux que la mesure des AC neutralisants, une immunisation ACTIVE, ce qui permettrait d'avancer qu'elle seule constitue, dans le cas particulier, le critère de valeur d'une réponse immunitaire vraie. Il faudrait alors admettre que les 9 enfants n'ayant pas fait de M.S. en Fix. du C' avec le type 1, alors qu'ils en démontrent une en neutralisant, se sont en réalité peu ou pas immunisés.

B - Enfants qui avaient, AVANT VACCIN AU MOINS UN AC NEUTR. $\geq$ 4

Parmi ces 36 sujets, nous croyons utile de distinguer deux groupes :

1°/- Ceux qui avaient, avant vaccin, au moins un AC Fix. le C' à un titre $\geq$ 4 que nous pouvons considérer comme susceptibles d'avoir subi, avant vaccination, une infection assez récente, par un poliovirus.

- Les 10 cas rentrant dans cette catégorie méritent d'être discutés.

a)- Corrélation entre les titres d'AC Fix. le C' et AC neutralisants avant vaccination.

. Dans les 10 cas, où l'on trouve des AC Fix. le C' présents, ils sont accompagnés d'un titre élevé d'AC neutralisants.

. Dans tous les cas, le type de virus en cause peut être déterminé avec une quasi certitude, le mérite de cette précision revenant souvent à la Fix. du C' mais celle-ci doit parfois faire appel au taux d'AC neutralisants le plus élevé.

Nous détectons ainsi 1 type 1 (14) - 2 types 2 (3 et 32) - 7 types 3 (1, 4, 5,

26, 30, 34, 35).

. Les rapides fluctuations des AC Fix. le C' et parfois celles, encore plus précoces, des AC neutralisants ne permettent pas de situer avec précision dans le temps le moment de l'infection.

* 7 cas peuvent correspondre à une infection assez récente : (1,3,5,14,32,34,35),

* 3 cas (4,26,30) doivent être un peu plus anciens, la montée d'AC neutralisants pouvant s'expliquer par une réaction hétérotypique ou anamnétique.

h)- Présence d'anticorps hétérotypiques :

Sur les 10 sujets :

- Dans 5 cas, les réponses sont homotypiques en AC neutralisants et en AC Fix. le C'.

- Dans 5 cas, les réponses restent hétérotypiques :

. 1 fois (14) en AC neutralisants et AC Fix. le C' dans les 2 autres types mais à titre bas.

. 2 fois (3 et 32) en AC neutralisants seulement :

* dans 1 cas dans les 2 types avec un titre élevé en type 1,

* dans 1 cas dans le seul type 1 avec un titre bas.

. 2 fois (1 et 30) en AC Fix. le C' seulement :

* dans 1 cas, dans le seul type 2 à titre bas,

* dans 1 cas, dans les 2 autres types avec un titre égal.

o)- Cette infection récente gêne-t-elle l'immunisation dans les deux autres types ?

Qu'il s'agisse d'une réaction anamnétique ou d'une véritable infection vaccinale, il est facile de constater que ces 10 enfants ont ac-

quis, après vaccination, des titres d'AC neutralisants pour les types par lesquels ils n'avaient pas été infectés, aussi satisfaisants en proportion que ceux obtenus par les autres groupes d'enfants. Un décompte plus précis serait illusoire, vue la mauvaise réponse générale au virus vaccin de type 1. Notons seulement que le sujet 32 a fait probablement une infection par un type 2 et que, le phénomène d'interférence ayant sans doute joué, la vaccination a été chez lui, un échec total.

2°/- Ceux qui n'avaient aucun AC Fix. le C' détectable, avant vaccination :

26 sujets parmi lesquels nous distinguerons :

(a) ceux qui ont montré une M.S. à la fois en AC Fix. le C' et en AC neutralisants (ceux-ci préexistants ou non),

(b) ceux qui n'ont montré aucune M.S., ni en AC Fix. le C' ni en AC neutralisants,

(c) ceux qui ont montré une M.S. en AC neutralisants et pas en AC Fix. le C',

(d) ceux qui ont montré une M.S. en AC Fix. le C' et pas en AC neutralisants .

	Type 1	Type 2	Type 3
(a)	2	14	16
(b)	14	3	4
CORRELATIONS	<u>16</u>	<u>17</u>	<u>20</u>
(c)	1		
(d)	9	9	6
DISSOCIATIONS	<u>10</u>	<u>9</u>	<u>6</u>

ETUDE des DISSOCIATIONS :

1°/- En ce qui concerne le type 1 (10/26) , la remarque faite plus haut (triples négatifs) est valable ici aussi.

2°/- Pour le type 2 : sur les 9/26 cas de dissociation :

- 3 cas (10,12,13) avaient vu leur titre d'AC Fix. le C' doubler seulement.

- 4 cas (2,18,21,23), bien qu'ayant nettement augmenté leurs AC neutralisants ne montrent pas d'AC Fix. le C' détectables.

- 2 cas (15,24) peuvent correspondre à une infection récente, antérieure à la vaccination, vus les titres élevés en AC neutralisants dans un type, la montée d'AC neutralisants dans le type 2 pouvant être hétérotypique.

3°/- Pour le type 3 : sur les 6/26 cas de dissociation :

- Dans 3 cas, le titre d'AC Fix. le C' a doublé seulement (10, 13,18).

- Dans 3 cas (2;23;25) il est possible que les AC Fix. le C' ne soient pas apparus.

IV - CONCLUSION :

Quel a été l'apport de la réaction de Fix. du C' ?

1°/- Elle a permis de recouper un certain nombre de faits :

a)- Les nourrissons de moins de 4 mois surtout, s'immunisent moins bien que les autres et ce, pour diverses raisons. Mais si l'on se reporte au Tableau I on voudra bien admettre que la vaccination semble avoir déterminé malgré tout, dans cette tranche d'âge, un pourcentage d'immunisation non négligeable. Mais ces enfants constituant par définition, un mauvais matériel d'étude pour le biologiste, nous avons jugé bon de les écarter de notre essai d'interprétation, et pour éviter de fausser les résultats obtenus par les réactions sérologiques, nous avons préféré porter la limite de sécurité à 6 mois.

b)- Les réponses au virus vaccin de type 1 ont été médiocres

dans tous les groupes.

c)- Chez les enfants de plus de 6 mois, ayant avant vaccination au moins un titre de 4 en AC neutralisants dans un type, les réponses aux types 2 et 3 ont été bonnes, si on les juge sur le pourcentage de M.S. des AC neutralisants (86 % et 80 %). Elles paraissent moyennes, jugées sur le pourcentage de M.S. des AC Fix. le C' (52,7 % et 50 %).

d)- Chez les "TRIPLES NEGATIFS" de plus de 6 mois, réponses excellentes des AC neutralisants dans ces mêmes types 2 et 3 (M.S. = 100 % et 79 %), bonnes des AC Fix. le C' (72 % et 65 %)

On remarque ici la différence essentielle séparant le mécanisme d'immunisation par vaccin vivant d'une part, par vaccin inactivé d'autre part, ce dernier donnant au contraire de mauvais résultats chez les individus n'ayant jamais rencontré de poliovirus auparavant.

2°/- Elle a permis d'affirmer comme relativement récente des infections poliomyélitiques antérieures à la vaccination en contribuant souvent au TYPAGE du virus en cause, ce qui constituera un apport précieux pour une étude de la vitesse de diffusion des virus sauvages ou vaccinaux dans une collectivité. Ce problème n'a pu être envisagé ici. Elle peut aussi permettre d'interpréter un échec de vaccination en consolidant l'hypothèse d'une interférence virale par un agent encore présent dans l'intestin du vacciné.

3°/- Dans les cas où une infection poliomyélitique récente n'est pas mise en évidence :

a)- Il est remarquable que le titre d'AC Fix. le C' reste bas ou indétectable assez fréquemment lorsque le titre acquis en AC neutralisants est faible, ce fait étant notable en particulier chez les "TRIPLES NEGATIFS". L'hypothèse peut être envisagée suivant laquelle l'absence d'une M.S. des AC Fix. le C' après vaccination, accompagnant une faible augmentation du titre d'AC neutralisants pourrait signifier, tantôt (au moins chez les "TRIPLES NEGATIFS") une non immunisation, donc un échec de vaccination, tantôt prouver, chez ceux

qui avaient des AC neutralisants avant vaccination une immunité tissulaire satisfaisante, malgré le taux d'AC neutralisants bas, expliquant par le phénomène dit de "REFUS", la non multiplication du virus vaccin dans l'intestin et par voie de conséquence, la non production d'AC d'infection (Fix. le C').

b)- Dans un pourcentage important des cas, et surtout chez les "TRIPLES NEGATIFS", la Fix. du C' aurait permis à elle seule d'affirmer - autant que faire se peut - le succès de la vaccination.

4°/- Il nous semble enfin important de noter que la valeur de la recherche des AC Fix. le C' dans cette enquête, ne peut être évaluée de façon convenable, par le fait que nous n'avons pu tester un sérum moins tardif qui aurait été un jalon précieux dans la détection des ces AC.

Dans ce cas très particulier dans lequel le jour d'ingestion des virus est connu avec précision, le moment où se déclenche la multiplication intestinale de ceux-ci peut être déterminé à quelques jours près : les AC neutralisants d'apparition précoce et de longue durée, voient leurs taux s'accroître de façon bien plus régulière - lorsqu'on ne dispose que d'un seul sérum très tardif - que les AC Fix. le C' d'apparition certes en règle plus tardive mais de durée parfois beaucoup plus courte. C'est pourquoi il nous semble très probable que l'engagement dans la réaction de Fix. du C' d'un 3ème sérum intermédiaire dans le temps - c'est-à-dire entre le jour 0 et le jour 84 - modifierait peut être de façon importante la valeur de l'apport des taux d'AC Fix. le C' et permettrait peut être de constater si, malgré leur évolution parfois capricieuse et leurs taux maximums souvent assez faibles, l'étude de ces AC Fix. le C' ne constituera pas le moyen de contrôle le plus précis, le plus économique et le plus rapide, des immunisations obtenues avec des vaccins vivants.

5°/- Nous n'avons pu tester de sérum plus tardifs qui nous aurait permis de suivre l'extinction éventuelle des AC Fix. le C' et de juger ainsi du moment à partir duquel ils ne constituent plus une gêne pour le diagnostic éventuel d'une infection naturelle ultérieure.

CHEZ DES SUJETS DE PLUS DE 70 ANS :

12 vieillards (6 hommes et 5 femmes) âgés de plus de 70 ans, ont ingéré une seule dose de vaccin vivant, suivant les mêmes modalités que les enfants.

Trois prises de sang ont été effectuées :

- la première avant vaccination,
- la deuxième un mois après le vaccin,
- la troisième trois mois après le vaccin.

RESULTATS : on peut remarquer (Tableau XIII) :

1°/- Que tous les sujets ont des AC neutralisants à un titre ≥ 4 avant vaccination au moins dans un type, alors qu'un seul possède un AC Fix. le C' (n° 5) à taux bas (titre 4) en type 1.

2°/- Que la moitié environ des sujets ne montrent pas ou peu de modifications de leurs titres d'AC neutralisants, ni d'AC Fix. le C', ce qui, chez des patients de cet âge, signe certainement une immunité acquise antérieure (Cas 1,2,5,9,12).

3°/- Qu'un certain nombre fait une montée de leur titre d'AC neutralisants qui pourraient laisser supposer qu'ils ont répondu à l'ingestion. Deux arguments permettent de penser qu'il s'agit plutôt d'un phénomène de rappel limité :

a)- Les AC Fix. le C' n'apparaissent pas. Or ils semblent signifier, plus probablement que les AC neutralisants l'immunité active.

b)- Dans la plupart des cas, les titres d'AC neutralisants, décroissent très rapidement, bien plus que lorsqu'il s'agit d'une immunisation active.

4°/- Qu'un titre maximum en Fix. du C' de 8 n'est constaté qu'une seule fois.

Chez ces sujets âgés chez lesquels l'immunité antérieure peut être considérée comme à peu près certaine et très ancienne, il paraît clair que la

Fix. du C' est une méthode beaucoup plus sûre que la NEUTRALISATION pour contrôler une réponse immunitaire à une ingestion de vaccin vivant. Il est permis à priori, d'extrapoler cette observation aux sujets très jeunes et d'avancer que si la réaction de Fix. du C' paraît chez ceux-ci moins sensible que la neutralisation, c'est probablement parce qu'elle est un témoin fidèle et plus sûr de la constitution actuelle d'une immunité.

SUJETS DE PLUS DE 70 ANS AYANT INGERE DU VACCIN VIVANT

N O M S	Prélèv. N°	TYPE 1		TYPE 2		TYPE 3	
		Neutr.	Fix. C'	Neutr.	Fix. C'	Neutr.	Fix. C'
1 ALE...	1	16	0 *	16	0	64	0
	2	64	0	16	0	64	0
	3	64	0	16	0	64	0
2 MAC...	1	16	0	64	0	64	0
	2	16	0	64	0	16	0
	3	16	0	64	0	64	0
3 MON...	1	4	0	64	0	pur	0
	2	16	0	64	0	32	0
	3	16	0	64	0	0	0
4 ROB...	1	4	0	4	0	4	0
	2	128	0	64	0	64	0
	3	64	0	64	0	16	0
5 ROI...	1	16	4	16	0	4	0
	2	16	0	4	0	4	0
	3	16	0	16	4	4	0
6 VAY...	1	4	0	4	0	64	0
	2	≥256	0	≥256	0	256	0
	3	16	4	16	0	16	0
7 BAR...	1	0	0	0	0	4	0
	2	4	4	0	0	64	4
	3	0	0	0	0	16	4
8 DEL...	1	0	0	0	0	4	0
	2	256	4	≥256	0	16	0
	3	16	0	64	0	16	0
9 DUM...	1	64	0	16	0	64	0
	2	64	8	16	0	64	0
	3	16	4	16	0	16	0
10 JOU...	1	4	0	64	0	64	0
	2	64	0	≥256	0	64	0
	3	64	0	256	0	64	0
11 LAC...	1	4	0	16	0	16	0
	2	16	0	≥256	0	≥256	4
	3	4	0	256	0	64	0
12 PER...	1	0	0	64	0	16	0
	2	4	0	64	0	16	0
	3	4	0	16	0	16	0

* Pour les AC Fix. le C' et Neutr., bien vouloir lire 0 = ≤ 4

B - TRAVAUX PORTANT SUR L'ETUDE DES ANTICORPS FIX. LE C' APPARUS APRES ADMINISTRATION DE VACCIN VIVANT POLIOMYELITIQUE -

Il est nécessaire d'insister tout d'abord sur le fait que l'intérêt de ces études est double, car la généralisation des vaccinations antipoliomyélitiques amène à poser deux problèmes :

1°/- La réaction de Fix. du C' permet-elle de juger de l'efficacité de la vaccination ? Dans l'affirmative, est-elle supérieure aux autres tests classiques et en particulier à la réaction de neutralisation ?

2°/- Dans la mesure où cette vaccination fait apparaître dans l'organisme du patient des anticorps Fix. le C', est-il encore possible d'utiliser la réaction de Fix. du C' dans un but diagnostique chez un tel sujet, si l'on soupçonne chez lui, peu après l'administration du vaccin, une infection naturelle d'origine poliomyélitique ?

Nous rappellerons brièvement l'essentiel de ce que les études portant sur les réponses obtenues par injections de VACCIN INACTIVE ont pu déterminer : F.L. BLACK (1955) d'une part et J.L. MELNICK (1955) d'autre part, étudiant un groupe de 30 enfants ayant reçu du vaccin de type 1 inactivé par le formol, remarquent d'une part que ce vaccin ne détermine l'apparition d'AC Fix. le C' que chez les enfants ayant déjà rencontré un poliovirus, infection antérieure dont la réalité est signée par la présence d'AC neutralisants dans le sérum prélevé avant vaccination. D'autre part, chez de tels sujets le vaccin formolé induit l'apparition d'AC Fix. le C' aussi bien des types 2 et 3 que de type 1, fait qu'ils expliquent dans une étude commune (F.L. BLACK et J. MELNICK, 1955) où ils démontrent que ce vaccin formolé, utilisé comme antigène dans des réactions diagnostiques de Fix. du C' fournit un pourcentage élevé de réactions hétérotypiques. Ils prouvent ainsi que le formol - comme la chaleur - peut diminuer la spécificité de type du virus et, semble-t-il, aussi bien in vivo qu'in vitro.

Ces faits sont en partie confirmés par E.H. LENNETTE - H.J. SCHMIDT - R.L. MAGOFFIN (1961) qui constatent eux aussi des réponses hétérotypiques à l'administration d'un vaccin formolé. Mais s'ils observent également qu'une

infection antérieure semble indispensable pour que de tels vaccins déclenchent une réponse,

- qui serait donc un simple phénomène de rappel - ils notent en outre que cette réponse est bien plus régulière dans un lot de 200 sujets âgés de 6 à 9 ans (57 % de montées significatives) que dans un groupe de 47 recrues de 18 à 20 ans (28 %). Les auteurs avancent que cette constatation peut s'expliquer par le fait que l'intervalle de temps séparant la primo-infection de la vaccination est à priori nettement plus court chez les enfants que chez les recrues et que le phénomène de rappel joue logiquement beaucoup mieux chez ceux-là.

- Répondant ensuite à la seconde question posée plus haut, ces mêmes auteurs se préoccupent de connaître les incidences de cette vaccination sur l'interprétation des résultats d'une réaction diagnostique ultérieurement pratiquée chez les vaccinés. Leurs conclusions les amènent à admettre qu'un tel diagnostic est impossible par la réaction de Fix. du C' dans le premier mois suivant l'administration d'une dose de vaccin formolé. Par contre, si cette dose est administrée au moins quatre semaines avant le prélèvement du sérum précoce, ils pensent qu'une augmentation significative du titre signe l'évidence d'une infection actuelle. Plus délicate est la détermination d'un titre présumptif, en l'absence d'une telle montée du taux d'AC Fix. le C'. Cependant, après avoir constaté chez deux groupes d'enfants, l'un témoin (non malades et non vaccinés), l'autre composé de sujets non malades et vaccinés, que des tests effectués entre 6 et 12 mois après la vaccination ne démontraient un titre de 32 que dans 2 % des cas du premier groupe et dans 3 à 10 % des cas du deuxième groupe, ils proposent ce titre de 32 comme présumptif d'une infection récente chez les sujets n'ayant pas reçu de vaccin inactivé depuis un an.

Si de tels vaccins, ne déterminant pourtant qu'une immunisation incomplète, sont susceptibles d'apporter de notables complications au diagnostic sérologique, on conçoit les difficultés auxquelles peut s'attendre le biologiste dans l'étude des sérums de sujets ayant reçu du VACCIN VIVANT. Les vaccins vivants atténués reproduisant l'infection naturelle, on peut penser que leur ingestion doit créer des réponses immunitaires semblables à celles fournies par

celle de virus "sauvages".

M.K. VOROSHILOVA et Coll. (1962) dans une publication rapportant une enquête portant sur un grand nombre d'enfants moscovites et basée surtout sur l'étude des anticorps neutralisants, consacre cependant une partie de son travail au titrage des AC Fix. le C' et note que, chez 110 enfants :

d'une part, 6 mois après une vaccination de masse par vaccin SABIN, (ce vaccin ayant été administré suivant de nombreuses modalités différentes) on détectait un titre ≥ 4 d'AC Fix. le C' poliomyélitiques :

- chez 42 % des enfants en type 1 dont 7 % avec un titre ≥ 16	
43 % - - 2 - 4 % - - ≥ 16	
44 % - - 3 - 7 % - - ≥ 16	

d'autre part, un an après cette vaccination, chez les mêmes enfants, un titre 4 était trouvé :

- chez 1,8 % des enfants en type 1	
13,6 % - - 2	
1,8 % - - 3	

Si l'auteur peut conclure qu'après un an, les AC Fix. le C' ont pratiquement disparu, il est regrettable qu'aucune indication ne soit donnée, dans la première partie de l'enquête sur les montées significatives éventuelles.

J. PAPAPAWAGIOTOU et H. VON MAGNUS (1962) proposent une étude qui présente un intérêt limité car d'une part elle est effectuée sur cobayes, d'autre part et surtout l'administration du vaccin est pratiquée par une injection sous-cutanée. Dans ces conditions très artificielles, ils observent que, 8 jours après l'injection, les AC neutralisants sont apparus chez la plupart des animaux, alors qu'aucun ne possède d'AC Fix. le C'. Par contre, trois semaines après l'injection, les AC neutralisants ont diminué, alors que les AC Fix. le C' sont apparus, sous condition que la concentration du vaccin en virus soit forte.

A.M. FIELD - E.I. TANNER (1963) ont fourni l'étude la plus remarquable sur ce sujet.

Ils prospectent en autres deux groupes d'enfants âgés de 6 à 12 mois, ayant ingéré du vaccin vivant atténué SABIN selon les modalités suivantes :

- Le groupe 1 reçoit une dose de vaccin trivalent (70 sujets)
- Le groupe 2 reçoit 3 doses de vaccin trivalent, chaque ingestion étant séparée de la suivante par un intervalle de 4 semaines.

L'évolution des AC neutralisants d'une part, Fix. le C' d'autre part est suivie; trois prélèvements de sérums sont effectués :

- Le premier avant la première ingestion
- Le second, un mois après la dernière ingestion
- Le troisième, 6 mois après la dernière ingestion.

Pour la Fix. du C', les auteurs utilisent comme AG, des souches SABIN atténuées, donc non chauffées, qu'ils engagent dans la technique de FULTON et DUMBELL.

Ne tenant pas compte des montées significatives des titres, ils admettent comme positives :

La réaction de Fix. du C' pour les titres	≥ 4
La réaction de Neutr.	≥ 8

Leurs résultats peuvent se résumer comme suit :

1°/- Sérums avant vaccinations :

Aucun ne possède de titre d'AC Fix. le C' ≥ 4

Beaucoup ont des AC neutralisants à des titres de 8 ou 16. L'évaluation de l'apparition et de la persistance des AC neutralisants chez ces enfants, est rendue difficile par le fait que ces AC peuvent être d'origine maternelle, hypothèse probable surtout pour les sujets du groupe 1, dont la seconde prise de sang est effectuée un mois seulement après la première.

2°/- Sérums prélevés un mois après la fin de la vaccination :

Le groupe 1 montre respectivement en types 1, 2 et 3 :

35 % - 87 % - 45 % de réactions de Fix. du C' positives

40 % - 96 % - 49 % de réactions Neutr. positives.

Le groupe 2 montre de la même façon :

79 % - 98 % - 96 % de réaction de Fix. du C' positives.

95 % - 100 % - 98 % - Neutr. positives.

3°/- Sérums prélevés 6 mois après la fin de la vaccination :

Groupe 1 : 13 % - 60 % - 23 % de réactions de Fix. du C' positives

51 % - 97 % - 44 % - Neutr. positives.

Groupe 2 : 10 % - 43 % - 25 % de réactions de Fix. du C' positives

96 % - 100 % - 95 % - Neutr. positives.

Les auteurs notent que ces pourcentages ne donnent pas un reflet exact de la dynamique des AC. En effet, si un mois après la vaccination, la majorité des sujets présente des titres d'AC Fix. le C' entre 8 et 32 et des titres d'AC neutralisants entre 16 et 128, après six mois ces derniers n'ont subi qu'une petite diminution, alors que la majorité des titres d'AC Fix. le C' sont de 4.

Autre avantage des AC Fix. le C' : ils ne posent pas de problème des AC maternels comme les AC neutralisants. Leur présence indiquant une immunité active explique la moindre sensibilité apparente de la Fix. du C' par rapport à la neutralisation, et permettant de surcroît de signer une infection récente, les auteurs préfèrent nettement la Fix. du C', plus simple, fournissant des résultats plus reproductibles et facile à mettre en oeuvre avec de petites quantités de sérum, pour juger de la valeur antigénique d'un poliovaccin vivant.

Leurs observations permettent d'admettre qu'après 6 mois, les AC Fix. le C' résiduels de la vaccination ne constituent plus une gêne pour le diagnostic d'une éventuelle infection naturelle, ce qui n'est pas le cas des AC neutralisants.

C - CONFRONTATION ET CONCLUSION -

Si nous n'avons pu étudier personnellement la longévité des AC Fix. le C' après vaccination chez nos jeunes sujets pour le reste nos résultats re-

coupent de façon satisfaisante ceux de FIELD et TANNER (1963), bien que le nombre de prises de vaccin soit différent. Pensant avoir usé d'un peu plus de vigueur, en tenant surtout compte des M.S. des titres d'AC, nous constatons les bons résultats obtenus en ce qui concerne le contrôle d'efficacité du vaccin vivant par la Fix. du C' plus régulière, plus simple et bien moins sujette à de "fausses réponses" que la réaction de neutralisation.

Nous avons pu constater, comme LEROUITE - SCHMIDT et MAGOFFIN que les réponses obtenues sont bien meilleures chez les sujets jeunes.

Nous noterons, sans pouvoir en apporter confirmation, que l'ingestion de vaccin vivant peut rendre difficile un diagnostic sérologique, en cas d'agression par un virus sauvage, pendant l'année qui suit la vaccination. Nous pensons cependant que cette restriction est heureusement théorique, l'excellente valeur antigénique d'un tel vaccin conférant l'immunité presque certaine aux patients qui l'absorbent. Elle garde pourtant sa valeur si l'on pense aux échecs rares mais inévitables de toute vaccination de masse, en particulier ceux qui tiennent à la présence d'autres entérovirus dans l'intestin de certains sujets au moment de l'ingestion vaccinale.

*

*

*

- R E S U M E -

Dans le cadre de l'infection poliomyélitique, la réaction de Fix. du C' est utilisable en particulier :

- Pour le diagnostic sérologique d'une infection poliomyélitique chez un sujet à partir duquel aucun virus n'a été isolé.

- Pour le même diagnostic lorsqu'on a réussi à isoler un virus dont il reste à prouver qu'il est bien l'agent causal de la maladie.

- Pour des enquêtes de masse, entre autre chez les vaccinés.

1°/- Etant rappelé que seule nous semble intéressante la synthèse des travaux ayant utilisé - comme nous-mêmes - des AG VIVANTS qui permettent le mieux, de saisir dans un certain nombre de cas une augmentation significative du titre des anticorps, et de tourner ainsi, dans une certaine mesure, la difficulté rencontrée pour l'obtention de sérums véritablement PRECOCES - vue l'apparition tardive des signes cliniques typiques par rapport au début réel de l'infection - ces AG présentant d'autre part l'avantage de réduire le pourcentage de réactions hétérotypiques décelées,

2°/- Etant admis une fois pour toutes que les titres retenus comme étant significatifs d'une infection récente ne sont valables que dans la mesure où l'on utilise toujours la même technique, avec les mêmes antigènes, en se garantissant contre toute diminution de la sensibilité ou de la spécificité de la réaction grâce à des témoins convenables et en nombre suffisant,

3°/- Etant précisé que ces critères n'ont pu être déterminés avec une sécurité suffisante que par l'étude de FORMES TYPIQUES ou d'affections dont l'origine poliomyélitique était hautement probable, enfin d'infections expérimentales, alors qu'il est évidemment beaucoup plus difficile d'opérer des déterminations précises des réactions immunologiques d'un organisme atteint d'une forme atypique ou inapparente,

4°/- Ayant présent à l'esprit que - sauf chez les PRIMAINFECTES, c'est-à-dire en général les très jeunes enfants chez lesquels il est souvent difficile de mener des enquêtes massives - il est le plus fréquemment impossible de détecter des réponses "immunologiquement pures", les réactions étant "parasitées" par des phénomènes de RAPPEL ou par la présence d'anticorps PEU SPECIFIQUES, pouvant provoquer la Fix. du C' avec nos AG poliomyélitiques,

Nous concluons, en ce qui concerne :

A - LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE D'UNE INFECTION, SANS ISOLEMENT DE VIRUS :

Compte tenu du fait :

1°/- que les anticorps APPARAISSENT à un titre ≥ 16 dans la majorité des cas (60 à 70 %) au plus tôt au 3ème jour après le début de la maladie mais peuvent, dans une minorité de cas apparaître très tard, entre le 30ème et le 100ème jour,

2°/- que leur TITRE MAXIMUM est atteint en 30 jours dans 50 à 60 % des cas, mais le sera parfois plus rapidement (7 jours dans 10 % des cas - 14 jours dans 25 % des cas), étant admis que dans la presque totalité des cas, la concentration des anticorps est à son apogée en 100 jours au plus,

3°/- que ces anticorps régressent assez lentement et que l'on peut déceler un titre ≥ 16 dans 16 % des cas après 2 ans, 24 % après un an, 37 % après 6 mois, 64 % après 3 mois, 74 % après 2 mois, ce qui permet néanmoins de conclure que ce titre de 16 correspond à une infection poliomyélitique probable ayant sévi dans les 6 mois précédents dans 2 cas sur 3 et dans les 3 mois précédents dans 1 cas sur 3,

4°/- que la SPECIFICITE des résultats ne peut être tenue comme convenable lorsqu'on peut mettre en évidence des titres < 16 ,

parce qu'il est possible d'obtenir la fixation du C' avec des sérums dilués au 1/8e de sujets atteints d'affections d'étiologies très diverses,

parce qu'il apparaît qu'un grand nombre d'individus ont des taux

équivalents d'anticorps dans leur sérum, sans qu'il soit possible d'en préciser l'origine, peut-être due à des infections anciennes, à autres entérovirus, voire bactériennes, susceptibles de déterminer l'élaboration d'anticorps paraspécifiques,

parce que un titre aussi faible peut être résiduel d'une infection inapparente ou fruste très ancienne, d'origine poliomyélitique. Dans de tels cas, les AC, quoique spécifiques, n'ayant dans cette conjoncture aucun rapport avec l'infection actuelle,

5°/- que le TYPE de POLIOVIRUS responsable sera le plus souvent difficile à déterminer chez les "polyinfectés",

parce que des phénomènes de RAPPEL complexes pourront déclencher des réactions immunitaires hétérotypiques dans 17 à 50 % des cas, provoquant en particulier chez les individus infectés par un type 1 l'apparition de titres d'anticorps contre le type 3 parfois supérieur à celui constaté en anticorps contre le type 1,

parce que certaines préparations antigéniques contiennent encore une partie de l'AG H,

parce que les affections à virus COXSACKIE et ECHO peuvent provoquer l'élaboration à titre important d'anticorps réagissant avec les AG poliomyélitiques et sont susceptibles de ce fait de déterminer un "rappel paraspécifique" des anticorps d'un type (3 par exemple) dont un taux élevé sera trouvé dans le sérum d'un individu ultérieurement atteint par une infection poliomyélitique dont un autre type sera responsable (1 par exemple).

Nous admettons que :

1°/- Si DEUX sérums, qui devront être prélevés de préférence aux environs du 3ème et du 15ème jours après le début de la maladie, permettent de constater dans le sérum "tardif" un titre au moins QUATRE FOIS SUPERIEUR à celui donné par le sérum précoce, on pourra poser un diagnostic de FORTE PROBABILITE d'une INFECTION RECENTE d'origine poliomyélitique.

2°/- Si UN SEUL SERUM :

- permet de déceler un titre ≥ 64 on admettra là encore une forte présomption d'infection récente (TITRE SIGNIFICATIF),

- montre un titre ≥ 16 , on proposera une PROBABILITE d'une infection polionyélitique, datant de MOINS de 6 MOIS,

3°/- Il pourra être intéressant, si le sérodiagnostic est demandé TARD - parce que l'étiologie polionyélitique possible n'a été évoquée par le clinicien qu'après l'élimination d'autres étiologies infectieuses à priori plus probables - de savoir que l'on peut, si l'on dispose de DEUX sérums TARDIFS (par exemple : 20e et 35e jour) avec lesquels il ne sera pratiquement jamais possible de saisir une montée du titre d'anticorps, acquérir une PRESOMPTION :

- bien entendu si l'on peut détecter un TITRE SIGNIFICATIF,

- si l'on saisit une DIMINUTION NETTE (4 fois au moins) du titre, lorsqu'on a la chance d'étudier un sujet chez lequel leur régression a été rapide.

4°/- Le TYPE de poliovirus sera déterminable chez le primo-infecté mais seulement chez 17 à 50 % des polyinfectés; soulignons que cet accolement ne gêne, en règle, que l'épidémiologiste et non le clinicien.

5°/- Pour éviter des ERREURS par DEFAUT, il faudra tenter d'obtenir du clinicien chaque fois que cela sera possible, lorsqu'un résultat négatif paraîtra surprenant, un 3ème SERUM, prélevé entre le 30e et le 60e jour, voire même jusqu'au 100e jour.

6°/- Du fait de l'impossibilité dans laquelle se trouve le biologiste d'écarter à priori la responsabilité éventuelle d'autres entérovirus dans la maladie actuelle et vue leurs interférences possibles dans les phénomènes immunitaires décelés, la rigueur voudrait que les résultats soient ainsi exprimés :

"Forte probabilité ou présomption d'une infection récente par un ENTEROVIRUS, vraisemblablement POLIOMYELITIQUE" étant bien entendu que si la clinique et l'épidémiologie le permettent, le clinicien pourra - mais lui

seul - décider de poser un diagnostic franchement orienté.

B - LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE D'UNE INFECTION AVEC VIRUS ISOLE :

Cet isolement :

pourrait donner un diagnostic de certitude lorsqu'il est réussi à partir d'un prélèvement provenant d'une cavité FERMEE (liquide céphalorachidien par exemple dans une méningite) : mais cette modalité étant difficile car rarement positive, vue le SEJOUR TRES COURT des virus dans ces localisations, et son PETIT NOMBRE,

sera le plus souvent réussi à partir de produits issus de CAVITES NATURELLES et surtout des selles, d'obtention facile, dans lesquelles le virus demeure ABONDANT pendant un TEMPS PROLONGE après l'apparition des signes cliniques majeurs, mais dans lesquelles le virus découvert peut être certes la cause réelle de la maladie mais aussi :

1°/- Si on isole un poliovirus :

- soit un hôte TRANSITOIRE, accidentel, qui sera évacué rapidement sans déterminer de manifestation pathologiques,

- soit un hôte destiné à faire un SEJOUR PLUS PROLONGE dans le tractus intestinal du sujet qui l'héberge, mais en simple COMMENSAL, l'individu étant alors à proprement parler un PORTEUR SAIN, cette éventualité - comme la précédente - pouvant parfaitement s'expliquer par une IMMUNITE CELLULAIRE, qui n'est suffisante pour déterminer l'expulsion immédiate de l'agent viral (par phénomène de REFUS) que dans le premier cas, cette élimination étant différée dans le second cas - mais dans les deux éventualités, le virus ne peut se multiplier,

- soit encore un hôte transitoire chez un sujet qui fait une infection provoquée par un AUTRE ENTEROVIRUS,

- soit un agent réellement infectieux pour le sujet mais qui a été ingéré par celui-ci pendant la période d'incubation ou d'état d'une maladie d'ETIOLOGIE DIFFERENTE, celle-ci donnant les signes cliniques et détermi-

nant les lésions, alors que le poliovirus ne détermine qu'une infection INAPPARENTE qui n'en va pas moins déclencher l'élaboration d'ANTICORPS.

- Dans les deux premiers cas, le seul isolement obtenu chez ces porteurs déterminerait une ERREUR de DIAGNOSTIC qui sera évitée par la réaction de Fix. du C' qui ne détectera pas d'anticorps, dans la plupart des cas.

- Dans le troisième cas la réaction de Fix. du C' pourra donner le diagnostic mais sera parfois gênée par l'apparition de réactions HETEROGROUPEES.

- Dans le quatrième cas, isolement et Fix. du C' seront en défaut.

2°/- Si on isole un autre entérovirus :

(On découvrira par exemple un virus ECHO dans une méningite ou un virus COXSACKIE dans une paralysie).

- Ou bien cet entérovirus est bien en cause, ce qui est parfaitement possible dans certaines formes cliniques comme la méningite, ce qui est moins courant dans une paralysie non régressive. Si la Fix. du C' démontre une augmentation ou un titre significatif d'anticorps fixant le C', il pourra donc s'agir d'anticorps hétérogroupe. Il faudra identifier l'entérovirus isolé et s'assurer d'une part qu'il correspond à un type susceptible de déterminer un tel syndrome (par exemple : coxsackie A7 dans une paralysie régressive), d'autre part engager un antigène préparé à partir de ce virus avec le sérum du malade pour rechercher la présence d'anticorps spécifiques,

- ou bien le virus n'est dans le tractus intestinal qu'en CONTENU et a empêché l'isolement du poliovirus cause réelle de la maladie. La Fix. du C' mettra en évidence des anticorps dont on confirmera la spécificité vis-à-vis du poliovirus, en engageant l'autre entérovirus avec le sérum du malade dans une autre réaction de Fix. du C' qui ne détectera pas d'anticorps contre cet agent.

Ces cas un peu particuliers - mais non exceptionnels - rappelés,

on voudra bien admettre qu'en règle générale, l'ISOLEMENT d'un VIRUS devra toujours être étayé par la réaction de Fix. du C' qui, si elle donne les résultats significatifs décrits précédemment, accompagnés de la découverte d'un polio-virus dans les selles du malade, verra renforcée suivant les cas, la forte probabilité ou la présomption d'une infection récente d'origine poliomyélitique qu'elle aura éventuellement permise de signer.

C - L'ETUDE DES REPOSES IMMUNITAIRES DE SUJETS VACCINES :

Si les anticorps NEUTRALISANTS, de durée plus longue donnent le meilleur reflet des infections très anciennes, il semble que les anticorps Fix. le C' puissent mieux rendre compte, surtout chez les sujets relativement âgés, de la réaction obtenue grâce à une récente vaccination.

L'étude de la DYNAMIQUE des anticorps Fix. le C' pourra dans de telles circonstances être théoriquement réalisée dans des conditions idéales puisqu'on connaît alors le JOUR EXACT DE L'INFECTION. Il n'en reste malheureusement pas moins qu'une certaine gêne sera apportée à cette recherche par le pourcentage jamais négligeable d'individus antérieurement infectés et par le nombre élevé de souches virales activement dispersées dans la plupart des collectivités où peuvent se réaliser de telles études, et surtout dans les pouponnières et crèches où sont réunis les sujets représentant le meilleur matériel de prospection.

Il faudra, pour confronter avec fruit les différents travaux, attendre que les modalités d'administration des vaccins vivants soient standardisées; elles sont actuellement trop diverses pour qu'il soit raisonnable d'admettre que puissent-être comparés les résultats obtenus par des sollicitations antigéniques imposées dans des conditions aussi différentes aux lots de vaccinés étudiés dans divers pays.

Il sera indispensable d'obtenir la plus large compréhension, de la part des médecins chargés des vaccinations et des parents, afin de disposer de prélèvements nombreux dans le temps.

Il sera enfin nécessaire de trouver les éléments qui permettront d'extrapoler ces résultats expérimentaux, obtenus avec des souches atténuées, à ceux fournis par l'infection naturelle due à des souches "sauvages", ce qui rendrait sans doute possible la détermination de titres significatifs standardisés, dans la mesure où l'on pourra passer l'écueil des réactions hétérogrou-pes, et où les spécialistes internationaux voudront bien admettre qu'il importe avant tout de travailler à la standardisation de leurs techniques.

*

*

*

- C O N C L U S I O N S -

La réaction de fixation du complément appliquée au diagnostic de l'infection poliomyélitique n'a fait l'objet que d'un nombre de travaux limités alors que cette réaction sérologique est très largement employée pour beaucoup d'autres infections à virus tant en ce qui concerne leur diagnostic que les enquêtes épidémiologiques. Il est apparu utile de procéder à une étude de cette réaction en tenant compte des faits publiés à ce jour et des observations que nous avons pu recueillir au cours des années récemment écoulées.

Il semble qu'une des raisons qui ait limité l'emploi pratique de la réaction de fixation du complément, soit les difficultés rencontrées pour la préparation d'antigènes valables. Les différentes modalités de préparation de ces antigènes ont été indiquées en insistant surtout sur les méthodes actuelles auxquelles nous nous sommes arrêtés pour la préparation des antigènes vivants.

Les résultats obtenus à l'aide de ces antigènes avec la réaction de fixation du complément ont été indiqués tant en ce qui concerne l'infection poliomyélitique naturelle, que l'infection expérimentale réalisée en particulier par la vaccination de l'homme par les virus poliomyélitiques vivants.

Au cours de l'infection naturelle nous avons observé que chez les sujets atteints de poliomyélite paralytique ou non au cours de laquelle le virus a été isolé, nous constatons, compte tenu des sérums qui nous avaient été envoyés par les cliniciens et des dates auxquelles ils avaient été prélevés une augmentation significative du titre des anticorps dans 13 % des cas, un titre ≥ 64 dans 23 % des cas, un titre ≥ 16 dans 47 % des cas.

Le titre maximum a été atteint en 30 jours puis les anticorps régissent assez lentement de telle sorte que l'on observe encore des titres de 16 après 6 mois.

En confrontant les données cliniques et virologiques (isolement de virus dans les selles) nous sommes amenés à admettre qu'une augmentation signi-

ficative constitue une preuve formelle, un titre 64 une très forte présomption et un titre 16 une probabilité de l'évolution d'une infection poliomyélitique.

Au cours des poliomyélites paralytiques à partir desquelles il n'avait pas été possible, pour des raisons diverses, d'isoler un virus poliomyélitique des observations analogues ont été faites lesquelles conduisent aux mêmes conclusions concernant la signification des titres d'anticorps.

Nos constatations personnelles confrontées avec les seules publications ayant employé les antigènes vivants et ayant fourni des résultats dûment exploitables ont fait apparaître une concordance très satisfaisante entre les résultats des autres auteurs et les nôtres.

Dans les infections expérimentales (vaccination par vaccin vivant) nous avons constaté l'apparition d'anticorps fixant le complément selon des modalités qui paraissent (autant que nous puissions en juger d'après deux prélèvements) comparables à celles de la maladie naturelle.

Si l'on compare l'évolution des anticorps neutralisants et fixant le complément il apparaît qu'il n'y a pas toujours concordance et qu'en particulier le pourcentage de sujets ayant des anticorps neutralisants est plus élevé que celui ayant des anticorps fixant le complément. Mais on peut penser que les anticorps fixant le complément doivent disparaître (comme cela est la règle dans beaucoup d'infections) plus rapidement que les anticorps neutralisants dont on connaît la longue persistance.

Il n'en reste pas moins que la réaction de fixation du complément, réaction "d'infection" prouve que la vaccination par vaccin vivant crée une infection expérimentale très proche de la maladie naturelle puisqu'elle est trouvée rarement positive après vaccination par vaccin inactivé. Elle permet de prouver la réalité du passage du virus dans l'organisme et d'une réaction immunologique du type de celle de la maladie naturelle.

Si l'on résume les travaux publiés à ce jour la seule critique qui ait été faite à la réaction de fixation du complément employée seule pour le

diagnostic d'infections poliomyélitiques est relative aux erreurs auxquelles elle pourrait éventuellement conduire si on tient compte du fait que des infections dues à d'autres entérovirus (Echovirus, Coxsackievirus) peuvent parfois provoquer l'apparition ou l'augmentation des anticorps réagissant avec l'antigène poliomyélitique vivant. Il faut reconnaître que les travaux publiés et nos propres observations ne sont pas actuellement suffisamment probants pour justifier les critiques qui ont été formulées à ce sujet.

La réaction de fixation du complément nous paraît donc à ce jour - à condition d'utiliser des antigènes vivants dûment préparés et titrés - une bonne méthode pratique de diagnostic de la poliomyéélite et de contrôle de la vaccination.

Le Président de la Thèse :

Pr. R. SOHIER,

VU, le Doyen :

Pour le Doyen :

L. REVOL,

VU et permis d'imprimer

LYON, le 5 juin 1964

Le Recteur, Président du
Conseil de l'Université,

P. LOUIS,

*

*

*

- B I B L I O G R A P H I E -

- 1 - ALBANO (A.).- On some simple methods for concentration of viruses.-
Z. Bakt., 1961, 181, 451-455.
- 2 - AMIEL (C).-
Thèse Pharmacie, Lyon, 1964.
- 3 - ARTZET (F.).- Poliomyelitic antigen for complement fixation.
Ann. Inst. Past., 1960, 99, 852-858.
- 4 - BARON (S.) .- Ultracentrifuge concentration of poliovirus and effect of calf serum and gelatin.-
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1957, 95, 760-764.
- 5 - BAUMEISTER (J.), MILLER (C.A.).- Preparation of poliomyelitic complement fixing antigens from infected tissue culture fluids.-
J. Inf. Dis., 1956, 98, 27-32.
- 6 - BEALE (A.J.) and MASON (P.J.).- The measurement of the D-antigen in polio-virus preparations.-
J. Hyg., 1962, 60, 113-121.
- 7 - BERGER (E.), VEST (H.).- Diagnostische Anwendbarkeit und Grenzen der ICB bei poliomyelitis.-
Schweizer Med. Wochenschrift, 1956, 27, 776-783.
- 8 - BLACK (F.L.) and MELNICK (J.L.).- Specificity of complement fixation test in poliomyelitis.-
Yale J. Biol. Med., 1954, 26, 385-393.
- 9 - BLACK (F.L.).- Poliomyelitis complement fixing antibodies and their demonstration.-
Ann. New-York Acad. Sc, 1955, 61, 781-789.
- 10 - BLACK (F.L.) and MELNICK (J.L.).- Appearance of soluble and cross-reactive complement-fixing antigens on treatment of poliovirus with formalin.-
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1955, 89, 353-355.

- 11 - BOERNER (F.) and LUKENS (M.).- Method for determining optimum dose and sensitivity of antigens used in wassermann test.-
Amer. J. Clin. Path., 1937, 7, 33-41.
- 12 - BOURDILLON (J.) and MOORE (D.H.).- Attempts at purification of murine strain of human poliomyelitis virus.-
Science, 1942, 96, 541-542.
- 13 - BUCCA (M.A.), CASEY (H.L.) and WINN (J.F.).- Method of concentration of viral diagnostic reagents using hydrophilic agents.-
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1960, 104, 247-250.
- 14 - FABIYI (A.), LIEF (F.S.) and HENLE (W.).- Antigenic analysis of influenza viruses by complement fixation. II. The production of antisera to strain-specific V antigens in guinea pigs.-
J. Immunol., 1958, 81, 467-473.
- 15 - FANTES (K.H.).- Concentration and partial purification of poliomyelitis viruses.-
J. Hyg., 1962, 60, 123-133.
- 16 - FIELD (A.H.), TANNER (E.I.).- The complement-fixing antibody response after vaccination with live attenuated poliovaccine.-
Bull. Ministry of Health, 1963, 22, 22-28.
- 17 - FREUND (J.) and Coll.- Antibody formation and sensitization with aid of adjuvants.-
J. Immunol., 1948, 60, 383-398.
- 18 - FULTON (F.).- Growth-cycle of influenza virus.-
Nature (London), 1949, 164, 189-190.
- 19 - FULTON (F.) and DUMBELL (K.R.).- The serological comparison of strains of influenza virus.-
J. Gen. Microb., 1949, 3, 97.
- 20 - GODTFREDSEN (A.).- Strains of coxsackie virus type A9 and ECHO virus type 9 recovered from cerebrospinal fluids.-
Acta Path. Scand., 1959, 46, 217-222.

- 21 - GOETZ (O.) and HUMMELER (K.).- Studies on the complement fixation antigens of poliomyelitis. IV - Anti-N Anti-H responses in children after infection and vaccination with attenuated viruses.-
A publier.
- 22 - GROSSOWICZ (N.), MERCADO (A.) and GOLDBLUM (N.).- A simple method for concentration of live and formaldehyde - inactivated poliovirus.-
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1960, 103, 872-874.
- 23 - HALONEN (P.), HUEBNER (R.J.) and TURNER (H.C.).- Preparation of ECHO complement fixing antigens in monkey kidney tissue and their purification by fluorocarbon.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1958, 97, 530-535.
- 24 - HALONEN (P.), ROSEN (L.) and HUEBNER (J.).- Homologous and heterologous CF antibodies in persons infected with ECHO, coxsackie and poliomyelitis viruses.-
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1959, 101, 236-241.
- 25 - HANMON (W.N.) and Coll.- A study of certain non poliomyelitis and poliomyelitis enterovirus infections; clinical and serologic associations.-
J. Amer. Med. Assoc., 1958, 167, 727-735.
- 26 - HENLE (W.), LIEF (F.S.).- Antigenic analysis of influenza virus by complement fixation. IV. Strain-specific V antigens in the serodiagnosis of influenza.-
J. Immunol., 1960, 84, 491-500.
- 27 - HENLE (W.), HENLE (G.), HUMMELER (K.) and LIEF (F.).- The changing aspects of the serodiagnosis of viral infections.-
J. Pediatrics, 1961, 59, 827-835.
- 28 - HOYLE (L.).- Structure of the influenza virus : The relation between biological activity and chemical structures of virus fractions.-
J. Hyg. (London), 1952, 50, 229-245.
- 29 - HERTENSTEIN (C.).- The preparation of a complement fixing antigen for poliomyelitis diagnosis.-
Z. Bakt., 1960, 178, 413-420.

- 30 - HUMMELER (K.), HALPARIAN (V.V.).- Studies on the complement fixing antigens of poliomyelitis. I - Demonstration of type and group specific antigens.- J. Immunol., 1958, 81, 499-505.
- 31 - HUMMELER (K.), TUHLOWICZ (J.J.).- Studies on the complement fixing antigens of poliomyelitis. II - Preparation of type specific anti-N and Anti-H indicator sera.- J. Immunol., 1960, 84, 630-634.
- 32 - HUMMELER (K.), ANDERSON (T.F.) and BROWN (R.A.).- Identification of poliovirus particles of different antigenicity by specific agglutination as seen in the electron microscope.- Virology, 1962, 16, 84-90.
- 33 - JOHNSON (T.), LYCKE (E.), WICTORIN (B.) and JOHNSON (B.).- Studies of an epidemic of aseptic meningitis in association with coxsackie and ECHO viruses.- Archiv. Ges. Virusforsch., 1958, 8, 285-293.
- 34 - KAHRER (E.), MEYER (K.P.) and EDDIE (B.).- Complement fixation inhibition test and its application to diagnosis of ornithosis in chickens and in ducks; confirmation of specificity and epidemiological application of test.- J. Inf. Dis., 1950, 87, 24-36.
- 35 - KIRBER (M.W.), HENLE (W.).- Comparison of influenza complement fixation antigens derived from allantoic fluids and membranes.- J. Immunol., 1950, 65, 229-244.
- 36 - LE BOUVIER (G.L.).- Modification of poliovirus antigens by heat and ultra-violet light.- Lancet, 1955, 2, 1013-1016.
- 37 - LE BOUVIER (G.L.).- Poliovirus D and C antigens : their differentiation and measurement by precipitation in agar.- Brit. J. Exp. Path., 1959, 40, 452-463.

- 38 - LENNETTE (E.H.) and SCHMIDT (N.J.).- Studies on the development and persistence of complement fixing and neutralizing antibodies in human poliomyelitis.-
Amer. J. Hyg., 1957, 65, 210-238.-
- 39 - LENNETTE (E.H.), SCHMIDT (N.J.) and MAGOFFIN (R.L.).- Observations on the CF antibody responses to poliovirus in patients with certain coxsackie and ECHO virus infections.-
J. Immunol., 1961, 86, 552-560.
- 40 - LEPINE (P.), SLIZEWICK (P.), DANIEL (P.) et PACCAUD (N.).- Cultures cellulaires dans un milieu utilisant l'hydrolysate de caséine comme source d'acides aminés.-
Ann. Inst. Past., 1956, 90, 654-656.
- 41 - LIEF (F.), HENLE (W.).- Antigenic analysis of influenza virus by complement fixation.VI. Implications of age distribution of antibodies to heterologous strains following infections and vaccination.-
J. Immunol., 1960, 85, 494-502.
- 42 - LO MONACO (G.B.).- Fissazione del complemento per la poliomielite con antigeni vivi e inattivati dal B propiolattone.-
Lo Sperimentale, 1958, 108, 391-410.
- 43 - MELNICK (J.L.).- Isolation of virus and development of neutralizing and complement fixing antibodies in poliomyelitic patients.-
Ann. New-York, Acad. Sc, 1955, 61, 1005-1010.
- 44 - MIETENS (C.), HUMMELER (K.) and HENLE (W.).- Recall of CF antibodies to enteroviruses in guinea pigs.-
J. Immunol., 1964, 92, 17-23.
- 45 - MILLER (C.A.) and BAUMEISTER (J.).- Antibody response to naturally occurring poliomyelitis infections in children. II - Studies by CF method.-
Pediatrics, 1955, 15, 392-401.

- 46 - PAPAPANAGIOTOU (J.), VON MAGNUS (H.).- Complement fixing antibodies in guinea pigs after inoculation of poliovirus antigens.-
Acta Path. Microb. Scand., 1962, 54, 99-106.
- 47 - PLAN (R.) and FAYET (H.T.).- On the use of polyvinylpyrrolidone and polyethyleneglycols for the concentration of biological solutions.-
Ann. Biol. Clin., 1964, 19, 169-170.
- 48 - POLSON (A.) and HAMPTON (J.W.F.).- Studies on poliomyelitis virus : concentration and purification of the virus.-
J. Hyg., 1957, 55, 344-346.
- 49 - RRED (L.J.), HUENCH (H.).- A simple method of estimation fifty per cent end points.-
Amer. J. Hyg., 1938, 27, 493.
- 50 - ROIZMAN (B.), HOPKEN (W.) and MAYER (H.).- Immunochemical studies of poliovirus. II. Kinetics of the formation of infectious and noninfectious type 1 poliovirus in three cellstrains of human derivation.
J. Immunol., 1958, 80, 386-395.
- 51 - ROIZMAN (B.) and MAYER (H.M.).- Immunological studies of poliovirus. IV - Alteration of the immunologic specificity of purified poliomyelitis virus by heat and ultraviolet light.-
J. Immunol., 1959, 82, 19-25.
- 52 - SCHMIDT (N.J.) and LENNETTE (E.H.).- Complement fixation test for poliomyelitis.-
J. Exp. Med., 1955, 102, 133-150.
- 53 - SCHMIDT (N.J.) and LENNETTE (E.H.).- Modification of homotypic specificity of poliomyelitis complement-fixing antigens by heat.-
J. Exp. Med., 1956, 104, 99-120.
- 54 - SCHMIDT (N.J.) and LENNETTE (E.H.).- Studies on the development and persistence of complement fixing and neutralizing antibodies in human poliomyelitis.-
Amer. J. Hyg., 1957, 65, 210-238.

- 55 - SCHMIDT (W.A.K.) and HOEPKEN (V.).- Untersuchungen zur K B R der poliomyelitis.-
Arch. Ges. Virusforsch., 1962, 12, 421-436.
- 56 - SCHWERDT (C.E.) and SCHAFFER (F.L.).- Purification of poliomyelitis viruses propagated in tissue culture.-
Virology, 1956, 2, 665-678.
- 57 - VON ZEipel (G.), SVEDMYR (A.).- A study of the association of ECHO viruses to aseptic meningitis.-
Arch. Ges. Virusforsch., 1957, 7, 355-368.
- 58 - SELZER (G.).- The use of new antigens in the complement fixation test for acute poliomyelitis.-
J. Hyg. Lond., 1960, 58, 321-330.
- 59 - SOHIER (R.), PEILLARD (M.H.), GINESTE (J.) et FREYDIER (J.).- Microméthode en tubes pour la réaction de fixation du complément appliquée au diagnostic des infections à virus.-
Ann. Biol. Clin., 1956, 3-4, 1-10.
- 60 - SOHIER (R.) et Coll.-
A paraître en 1964.
- 61 - SUGGS (M.), CASEY (H.L.), SLIGH (D.D.), FODOR (A.E.) and Mc LEMANS (W.F.).- A batch-type concentration and purification procedure for poliovirus complement fixing antigen.-
J. Bacteriol., 1961, 82, 789-791.
- 62 - SVEDMYR (A.), ENDERS (J.F.) and HOLLOWAY (A.).- Complement fixation with Trunkhilde and Lansing poliomyelitis viruses propagated in tissue culture.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, 79, 296-300.
- 63 - SVEDMYR (A.), MELEN (B.) and KJELLEIN (L.).- Diagnosis of poliomyelitis and aseptic meningitis in 1953-1954 by means of virus isolation and serological tests.-
Acta Med. Scand. (Suppl. 316), 1956, 154, 20-32.

- 64 - VIRAT (J.).- Réaction de fixation du complément pour un diagnostic précoce de la poliomyélite.-
Ann. Inst. Past., 1961, 101, 125-132.
- 65 - VOROSHILOVA (M.K.) and al.- Results of serologic and virologic investigation of children in connection with mass immunization with Sabin oral live poliomyelitis vaccine.-
VIII Symposium, Prague, Sept. 1962, 259-280.

*

*

*

- TABLE DES MATIERES -

INTRODUCTION -

I- Structure antigénique des poliovirus et incidence de cette structure sur la valeur du sérodiagnostic.....	1
II- Valeur généralement accordée à la réaction de fixation du complément dans le cadre du diagnostic de l'infection poliomyélitique.....	9
III- Evolution de la réaction de Fix. du C' et de ses éléments, dans la poliomyélite.....	11

<u>BUT DE CE TRAVAIL</u>	25
--------------------------------	----

<u>MATERIEL - METHODES</u>	27
----------------------------------	----

VALEUR DIAGNOSTIQUE DE LA REACTION DE FIX. DU C' DANS L'INFECTION POLIOMYELETIQUE NATURELLE -

I - Etude personnelle	41
II- Autres travaux.....	51
III- Confrontation et conclusion.....	66

SPECIFICITE DE LA REACTION -

I- Etude personnelle.....	70
II- Autres travaux.....	72
III- Confrontation et conclusion.....	83

INTERET DE LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT DANS L'ETUDE DE L'INFECTION POLIOMYELETIQUE EXPERIMENTALE (Etude d'une vaccination par vaccin vivant atténué).

A- Etude personnelle.....	85
B- Autres travaux.....	108
C- Confrontation et conclusion.....	112

<u>RESUME</u>	114
---------------------	-----

<u>CONCLUSIONS</u>	122
--------------------------	-----

<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	125
----------------------------	-----

*

*

*

